HUỲNH THỊ NGỌC PHƯƠNG (CHỦ BIÊN)
NGUYỄN KIM ANH (ĐỒNG CHỦ BIÊN)
KHƯU MỸ LỆ, LÂM BẢO VY, LÝ NGUYỄN HẢI DU
TRẦN KIÊN, ĐINH CHÂU PHI

HÓA DƯỢC

TẬP 1



NHÀ XUẤT BẢN
ĐẠI HỌC QUỐC GIA THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

HUỲNH THỊ NGỌC PHƯƠNG (CHỦ BIÊN)
NGUYỄN KIM ANH (ĐỒNG CHỦ BIÊN)
KHƯU MỸ LỆ, LÂM BẢO VY, LÝ NGUYỄN HẢI DU
TRẦN KIÊN, ĐINH CHÂU PHI



HÓA DƯỢC

Tập 1

NHÀ XUẤT BẢN ĐẠI HỌC QUỐC GIA THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

NHÓM TÁC GIẢ:

Huỳnh Thị Ngọc Phương, PGS. TS. DS.
Bộ môn Hóa Dược, Khoa Dược - Đại học Y Dược TP. HCM

Nguyễn Kim Anh, TS. DS.
Bộ môn Hóa Hữu Cơ - Hóa Dược, Khoa Y - Đại học Quốc gia TP. HCM

Khưu Mỹ Lệ, TS. DS.
Bộ môn Hóa chuyên ngành, Khoa Dược - Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch - TP. HCM

Lâm Bảo Vy, TS. DS.
Bộ phận "Nghiên cứu và Phát triển", OmegaChem Inc. - Québec - Canada

Lý Nguyễn Hải Du, ThS. DS.
Bộ môn Dược lâm sàng, Khoa Dược - Đại học Y Dược TP. HCM

Trần Kiên, TS. DS.
Đơn vị phát triển thuốc (DDU), Viện nghiên cứu miễn dịch và ung thư (IRIC) - Đại học Montréal - Canada

Đinh Châu Phi, TS. DS.
Bộ môn Hoá Dược, Khoa Dược - Đại học Lille - Cộng hoà Pháp

Lời nói đầu

Hóa Dược là môn học cốt lõi của ngành Dược. Môn học này cung cấp kiến thức về các hợp chất dùng làm thuốc chủ yếu đi từ tổng hợp và bán tổng hợp, bao gồm: cấu trúc hóa học phân tử thuốc, mối quan hệ giữa cấu trúc hóa học đến tính chất hóa lý, tác dụng dược lý, phương pháp kiểm nghiệm thuốc, bảo quản thuốc, dạng bào chế, cũng như việc sử dụng thuốc an toàn hợp lý. Quyển sách ***Hóa Dược*** được biên soạn với tinh thần nêu trên, nhằm giúp sinh viên và giảng viên ngành Dược, Hóa Dược có thêm một tài liệu tiếng Việt để tham khảo, học tập và giảng dạy về môn học chuyên ngành này.

Nội dung quyển sách được bao gồm trong 2 tập:

- Tập 1 trình bày các vấn đề cơ bản liên quan đến Hóa Dược (đích tác động của thuốc, dược lực - dược động học, thiết kế thuốc) và các tác nhân hóa trị liệu (thuốc kháng sinh, kháng nấm, kháng ký sinh trùng, kháng virus và kháng ung thư).
- Tập 2 chủ yếu trình bày các thuốc tác động lên các cơ quan trong cơ thể, bao gồm hệ thần kinh thực vật, hệ thần kinh trung ương, hệ tim mạch, hệ thống hormone, hệ miễn dịch, hệ tiêu hóa và hệ hô hấp.

Trong 2 tập của quyển *Hóa Dược* này, các tên thuốc, tên hóa chất và thuật ngữ hóa học đa phần được giữ theo tiếng Anh để giúp người đọc thuận tiện khi tra cứu các tài liệu tham khảo.

Chúng tôi chân thành cảm ơn:

- TS Huỳnh Thị Ngọc Lan (Đại học Y Dược TP HCM)
- PGS.TS Trương Ngọc Tuyền (Đại học Y Dược TP HCM)
- PGS.TS Huỳnh Ngọc Trinh (Đại học Y Dược TP HCM)
- PGS.TS Phạm Ngọc Tuấn Anh (Đại học HUTECH TP HCM)
- ThS Mai Thành Tấn (Đại học Y Dược TP HCM)
- ThS Phan Minh Hoàng (Đại học Y Dược TP HCM)
- ThS Nguyễn Đức Tài (Đại Học Sherbrooke - Canada)
- ThS Nguyễn Thái Thế (Đại học Quốc Gia TP HCM)

Đã dành thời gian đọc bản thảo và góp ý cho nội dung của tập 1 quyển sách.

Tuy đã hết sức cố gắng trong việc biên soạn nhưng chắc chắn không tránh khỏi những thiếu sót. Chúng tôi rất mong có sự góp ý của quý đồng nghiệp và độc giả để quyển sách được hoàn chỉnh hơn.

Sau cùng, quyển sách này như một lời cám ơn cuộc đời đã cho chúng tôi nhiều cơ hội được tiếp cận với những kiến thức, những thành tựu của nhân loại về Hóa Dược và các môn học liên quan.

Thay mặt nhóm tác giả

Huỳnh Thị Ngọc Phương

MỤC LỤC

PHẦN I. NHỮNG VẤN ĐỀ CƠ BẢN LIÊN QUAN ĐẾN HÓA DƯỢC

PHẦN II. CÁC NHÓM HÓA DƯỢC

Phần I

NHỮNG VẤN ĐỀ CƠ BẢN LIÊN QUAN ĐẾN HÓA DƯỢC

Chương 1

ĐÍCH TÁC ĐỘNG CỦA THUỐC

Trần Kiên

1. ĐÍCH TÁC ĐỘNG CỦA THUỐC

1.1. Các khái niệm chung

Thuốc được định nghĩa là các tác nhân hóa học có cấu trúc đã biết có khả năng tác động lên các chức năng sinh học (của cơ thể người, vi khuẩn, ký sinh trùng,...) để điều trị bệnh [1,2]. Định nghĩa này tuy khá tổng quát và đơn giản nhưng phù hợp với phần lớn các thuốc hiện đang sử dụng. Vậy làm thế nào thuốc có thể tác động lên các chức năng sinh học của sinh vật sống?

Sinh vật sống có thể ở dạng đa bào, đơn bào hay không có cấu trúc tế bào nhưng tất cả đều được cấu tạo từ các thành phần cơ bản: protein, lipid, carbohydrate và vật liệu di truyền nucleic acid (DNA, RNA). Các thành phần này đảm nhận các vai trò khác nhau: lipid tham gia tạo thành cấu trúc màng tế bào bảo vệ các bào quan và thành phần bên trong, protein đóng vai trò enzyme, thụ thể, hormone, trung gian truyền tín hiệu đảm nhận quá trình hoạt động của tế bào, glycan đóng vài trò kháng nguyên bề mặt, đảm bảo việc nhận diện và gắn kết giữa các tế bào, nucleic acid lưu giữ mã di truyền cho việc nhân đôi và tổng hợp protein. Tình trạng bệnh lý xảy ra khi một trong những thành phần trên không thực hiện đúng chức năng sinh học đã định, DNA bị lỗi, một số protein bị tăng hoạt tính hoặc tích tụ không kiểm soát, một số khác bị giảm hoạt tính. Thuốc phát huy tác dụng bằng cách gắn kết lên cấu trúc các thành phần này và ảnh hưởng đến chức năng của chúng, đưa các quá trình sinh học trở về trạng thái cân bằng. Protein hoặc các cấu trúc mà thuốc gắn kết lên để tạo ra hoạt tính sinh học được gọi là đích tác động của thuốc.

Bảng 1.1. Ví dụ một số protein, lipid, carbohydrate, DNA và RNA là đích tác động của thuốc

Bản chất đích tác động	Đích tác động	Thuốc	Chỉ định
Protein	β_1-adrenergic (thụ thể)	Propranolol	Bệnh tim mạch
Protein	H1 (thụ thể)	Cetirizine	Kháng dị ứng
Protein	Opioid receptor (thụ thể)	Morphine, fentanyl	Giảm đau
Protein	ACE (enzyme)	Captopril, lisinopril	Bệnh tim mạch

Bản chất đích tác động	Đích tác động	Thuốc	Chỉ định
Protein	COX1, COX2 (enzyme)	Aspirin, ibuprofen	Kháng viêm
Protein	PBP của vi khuẩn (enzyme)	Penicillin	Kháng khuẩn
Lipid	Lipid màng tế bào	Gramicidin	Kháng khuẩn
Carbohydrate	Heparin	Protamine	Giải độc heparin
DNA	Cấu trúc DNA	Cisplatin	Trị ung thư
DNA	Cấu trúc DNA	Irinotecan	Trị ung thư
RNA	Cấu trúc RNA	Mipomersen	Trị cao cholesterol

Thuốc có thể có một hoặc nhiều đích tác động

Một vài nhóm thuốc có nhiều hơn một cơ chế tác động. Ví dụ như sorafenib ức chế nhiều kinase khác nhau như VEGFR, c-Raf để tạo ra hoạt tính chống ung thư [3] hay duloxetin ức chế cả protein tái hấp thụ serotonin (SERT) lẫn protein tái hấp thụ noradrenaline (NET).

Một vài thuốc tác động lên nhiều đích khác nhau nhưng chỉ một vài đích tác động có giá trị trị liệu. Ví dụ như aripiprazole tác động lên thụ thể dopamine D_2, thụ thể serotonin $5\text{-}HT_{1A}$ (chủ vận một phần), $5\text{-}HT_{2A}$ (đối vận) tuy nhiên chỉ có tác động lên D_2 và $5\text{-}HT_{2A}$ có ý nghĩa trị liệu trong rối loạn lưỡng cực hay tâm thần phân liệt [4].

Nhiều thuốc được phát triển qua sàng lọc kiểu hình (phenotypic screening) hoặc được phát hiện ngẫu nhiên (serendipitous) đôi khi đích tác động chưa được tìm thấy. Lithium là trị liệu tiêu chuẩn cho rối loạn tâm thần lưỡng cực (bipolar disorder) nhưng đích tác động chính của chúng vẫn chưa được sáng tỏ [5,6].

Có 2 hướng chính để sàng lọc thuốc mới

- Sàng lọc kiểu hình (phenotypic screening): sàng lọc hoạt tính của thuốc dựa vào các quan sát về biểu hiện/đáp ứng của tế bào, vi khuẩn hoặc các động vật như chuột, cá sọc vằn (zebra fish), ruồi giấm (drosophila). Phương pháp này chọn lọc hoạt chất tạo ra kiểu hình mong muốn mà không cần biết trước về đích tác động. Các ví dụ sàng lọc kiểu hình có thể kể đến như thử độc tính trên tế bào, thử kháng khuẩn, theo dõi sự thay đổi huyết áp, ngưỡng gây đau. Các kháng sinh nhóm linezolid hay thuốc giảm đau ziconotide được phát hiện và phân lập bằng phương pháp này [7,8]. Đích tác động của các thuốc trên được xác định sau đó.
- Sàng lọc dựa trên đích tác động (target-based screening): sàng lọc trực tiếp trên đích tác động là protein phân lập, DNA phân lập hoặc tế bào có tăng biểu hiện của đích tác

động. Trường hợp này áp dụng cho các đích tác động mà vai trò sinh học đã biết. Các ví dụ điển hình là thử hoạt tính trên enzyme, đo sự thay đổi các chất trung gian nội bào (second messengers) như cAMP, Ca^{2+} trên các tế bào có sự hiện diện của đích tác động. Trong các thử nghiệm tế bào, đích tác động thường được tăng biểu hiện ở mức cao, cho phép phân biệt các hoạt tính liên quan và không liên quan đến đích tác động. Phương pháp này cho phép phát triển nhiều nhóm thuốc như các thuốc trị ung thư ức chế kinase (sorafenib, sunitinib), thuốc tim mạch ức chế thụ thể endothelin (bosetan) [7].

Các đích tác động phổ biến trong cơ thể thường có cấu trúc là protein, do protein đóng vai trò trung tâm trong các hoạt động sống của tế bào và các vi sinh vật. **Protein ở màng tế bào** giúp duy trì cân bằng nội môi (các kênh ion kiểm soát nồng độ các chất điện giải), giải phóng các tín hiệu hóa học ra bên ngoài như hormone, chemokine, cytokine, nhận diện các tín hiệu đó (các thụ thể) hoặc nhận diện sự thay đổi của môi trường về pH, nhiệt độ, áp suất, áp suất thẩm thấu (các thụ thể), vận chuyển các chất dinh dưỡng và cơ chất (các kênh vận chuyển). **Các protein bên trong tế bào** tạo nên khung cấu trúc tế bào (tubulin, actin, myosin), giúp tế bào có thể thay đổi hình dạng và di chuyển, điều hòa các tín hiệu nội bào, chuyển hóa dinh dưỡng (enzyme), tổng hợp các cấu trúc của tế bào, lipid, DNA, protein và duy trì chức năng của tế bào hay của vi sinh vật. Mã di truyền DNA, RNA muốn có chức năng thường phải qua dịch mã để tạo ra protein, chỉ trong vài trường hợp như tRNA, shRNA, miRNA có hoạt tính mà không cần dịch mã thành protein.

1.2. Các mức độ phép thử và đánh giá hoạt tính sinh học của thuốc

Có nhiều mức độ thử và xác định hoạt tính của thuốc:

- *In vitro:* thử trên đích tác động (enzyme, thụ thể, DNA) trong môi trường ống nghiệm, đĩa nuôi cấy. Thử nghiệm *in vitro* đo đạc trực tiếp tác dụng của thuốc lên đích tác động hay các cơ chế sinh học liên quan. Nếu thử nghiệm được thực hiện trên tế bào (cell) thì còn được gọi là thử nghiệm *in cellulo*.

- *In vivo:* thử nghiệm trên động vật, mục đích đánh giá tác động tổng quát của thuốc lên động vật. Giả thiết ở thử nghiệm *in vivo* là tác dụng quan sát được trên động vật bắt nguồn chủ yếu từ việc thuốc tác dụng lên đích tác động. Tuy nhiên luôn nhớ rằng đây là thử tổng quát và thuốc tương tác với toàn bộ cơ thể sống.

- *In silico:* nghiên cứu mô phỏng trên máy tính. Thử nghiệm sử dụng thuật toán để đánh giá khả năng thuốc tương tác với đích tác động (pharmacodynamics) cũng như tiên đoán các thuộc tính dược động học (pharmacokinetics) của thuốc. Thử nghiệm này giúp giảm chi phí nghiên cứu, tăng xác suất thành công và thường được sử dụng hỗ trợ thử nghiệm *in vitro* và *in vivo*.

Khi đề cập tới các cơ chế liên quan đến đích tác động, các thử nghiệm *in vitro, in cellulo* và *in silico* thường được sử dụng.

- *Clinical trial:* thử nghiệm lâm sàng. Thử nghiệm để đánh giá tác dụng của thuốc trên cơ thể người. Thử nghiệm này mang tính pháp lý và cung cấp cơ sở khoa học để cấp phép cho thuốc được sử dụng trên thị trường.

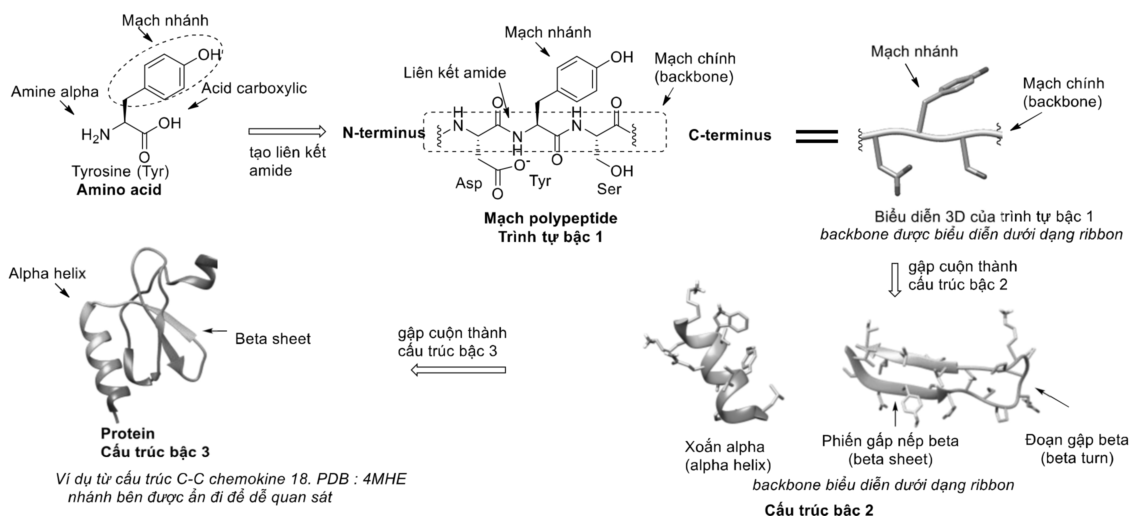
2. CẤU TRÚC VÀ CHỨC NĂNG CỦA PROTEIN

2.1. Cấu trúc và chức năng cơ bản

Protein được cấu tạo bởi một hoặc nhiều polypeptide. Mỗi polypeptide là một chuỗi các amino acid (> 20 amino acid) được liên kết với nhau bằng liên kết amide (Hình 1.1). Mỗi amino acid bao gồm:

- Mạch nhánh (side chain): đóng vai trò quan trọng trong tương tác của protein với thuốc hoặc với các protein khác.

- Mạch chính (backbone): bao gồm nhóm acid carboxylic -COOH và nhóm amine $-NH_2$ (ở vị trí alpha so với acid nên thường được gọi là amine alpha). Hai nhóm này tạo liên kết amide (-CO-NH-) với các nhóm acid và amine của các amino acid khác để tạo thành mạch chính (backbone) của chuỗi polypeptide. Trong chuỗi polypeptide, đầu chứa nhóm amine gọi là N-terminus, đầu chứa nhóm carboxylate gọi là C-terminus.



Hình 1.1. Cấu trúc bậc 1, bậc 2 và bậc 3 của protein

Có khoảng 20 amino acid thường gặp trong tự nhiên, được phân loại thành 6 nhóm dựa trên bản chất của mạch nhánh (Hình 1.2).

+ Các amino acid không phân cực: Ala, Val, Leu, Ile, Met.

+ Các amino acid không phân cực có nhân thơm: Phe, Tyr, Trp.

+ Các amino acid có nhánh bên mang điện tích dương: Arg, Lys, His.

+ Các amino acid có nhánh bên mang điện tích âm: Glu, Asp.

+ Các amino acid có nhánh bên phân cực không mang điện tích: Ser, Thr, Gln, Asn.

+ Các amino acid đặc biệt: Gly, Pro, Cys.

AA có mạch nhánh không phân cực

Tên đầy đủ Tên viết tắt - 3 ký tự Tên viết tắt - 1 ký tự	Alanine (Ala) **A**	Valine (Val) **V**	Leucine (Leu) **L**	Isoleucine (Ile) **I**	Methionine (Met) **M**

AA có mạch nhánh không phân cực có chứa vòng thơm

Tên đầy đủ Tên viết tắt - 3 ký tự Tên viết tắt - 1 ký tự	Phenylalanine (Phe) **F**	Tyrosine (Tyr) **Y**	Tryptophan (Trp) **W**

AA có mạch nhánh phân cực có điện tích dương

Tên đầy đủ Tên viết tắt - 3 ký tự Tên viết tắt - 1 ký tự	Lysine (Lys) **K**	Arginine (Arg) **R**	Histidine (His) **H**
Dạng ion hóa	NH_3^+	H_2N^+, NH_2, NH	HN+, NH

AA có mạch nhánh phân cực có điện tích âm

Aspartic (Asp) **D**	Glutamic (Glu) **E**

AA có mạch nhánh phân cực không mang điện tích

Tên đầy đủ Tên viết tắt - 3 ký tự Tên viết tắt - 1 ký tự	Serine (Ser) **S**	Threonine (Thr) **T**	Asparagine (Asn) **N**	Glutamine (Gln) **Q**

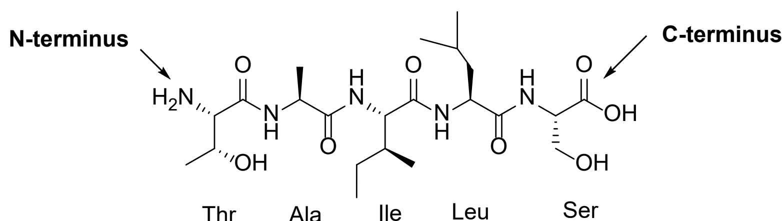
AA đặc biệt

Tên đầy đủ Tên viết tắt - 3 ký tự Tên viết tắt - 1 ký tự	Glycine (Gly) **G**	Proline (Pro) **P**	Cysteine (Cys) **C**

Hình 1.2. Các amino acid thường gặp trong cấu trúc của protein

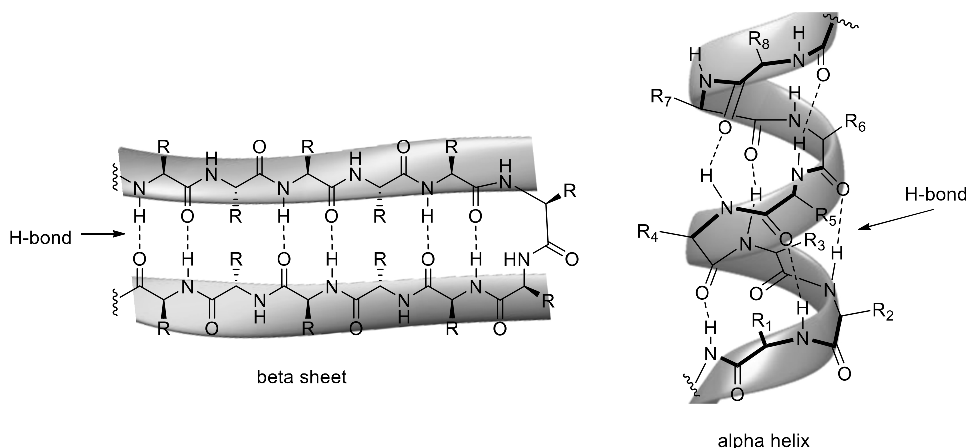
Các amino acid tự nhiên đều có trung tâm bất đối ở vị trí carbon alpha (trừ Gly). Tất cả đều có cấu dạng L theo danh pháp thông thường (dạng S theo danh pháp Cahn-Ingold-Prelog, trừ cysteine có cấu dạng R).

Các amino acid gắn kết với nhau tạo thành chuỗi polypeptide (mạch thẳng, cấu trúc bậc 1). Theo quy ước, trình tự amino acid hoặc cấu trúc peptide luôn được viết hoặc vẽ từ N-terminus tới C-terminus vì đây là chiều mà peptide hay protein được tổng hợp bởi các ribosome trong tự nhiên. Ví dụ như peptide dưới đây có trình tự là Thr-Ala-Ile-Leu-Ser (hay T-A-I-L-S).



Hình 1.3. Cấu trúc bậc 1 của peptide có 5 amino acid. N-terminus và C-terminus được chỉ bằng mũi tên. Protein thường là polypeptide chứa từ 20 amino acid trở lên

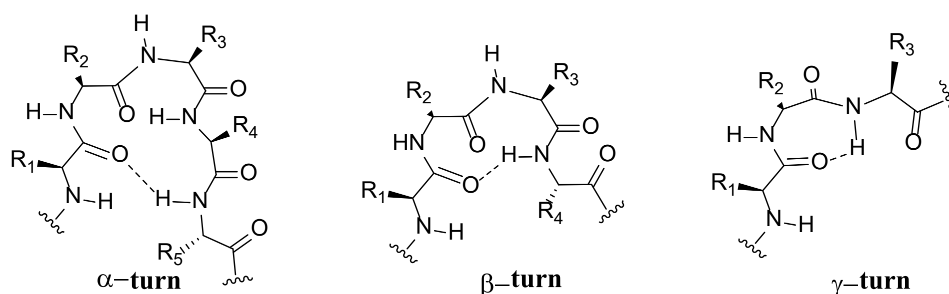
Các chuỗi polypeptide gập cuộn lại tạo thành cấu trúc bậc 2 như chuỗi xoắn alpha (alpha helix) hoặc phiến gấp nếp beta (beta sheet), đoạn gập (turn). Cấu trúc bậc 2 được làm bền bằng một hệ thống liên kết hydro nội phân tử giữa các nhóm amide của mạch chính polypeptide (Hình 1.4). Các liên kết nội phân tử này cho phép ẩn mạch peptide phân cực và tăng tính thân dầu của peptide/protein. Do đó, các protein xuyên qua màng tế bào thường có nhiều alpha helix trong cấu trúc [9].



Hình 1.4. Cấu trúc bậc 2 như beta sheet hay alpha helix được làm bền bởi hệ thống liên kết hydro nội phân tử

Glycine (Gly) không có nhánh bên, Proline (Pro) có nhánh bên mạch vòng thường xuất hiện ở vị trí các đoạn gập beta hoặc gamma. Nếu đoạn gập được làm bền bởi liên kết hydro nội phân tử giữa C=O amide của amino acid i và N-H amide của amino acid i+3, cấu trúc được phân loại là beta; nếu giữa amino acid i và i+2, cấu trúc sẽ được phân

loại là gamma (Hình 1.5) [10]. Các beta turn thường khá phổ biến trong cấu trúc protein, peptide có hoạt tính [11].



Hình 1.5. Các loại đoạn gập (turn) trong cấu trúc protein.
Các α-turn nếu lặp lại sẽ trở thành alpha helix ngược.
β-turn thường có proline hoặc glycine xuất hiện ở vị trí 1 hoặc 2.

Nhiều cấu trúc bậc 2 kết hợp với nhau tạo ra protein có cấu trúc bậc 3 (cấu trúc không gian tạo ra từ sự kết hợp một hoặc nhiều chuỗi xoắn alpha và nếp beta) (Hình 1.1). Trong đó, các cấu trúc bậc 2 (beta sheet, alpha helix) có thể được nối với nhau bằng các đoạn gập (turn, loop). Một vài protein có thể có cấu trúc bậc 4 khi được tạo thành từ nhiều tiểu đơn vị có cấu trúc bậc 3, ví dụ như hemoglobine trong hồng cầu (gồm 4 tiểu đơn vị - 2 tiểu đơn vị α và 2 tiểu đơn vị β). Trong 1 số trường hợp, cystein (Cys) có nhóm thiol, thường tạo liên kết disulfide làm bền cấu trúc 3D của protein. Nhờ cấu trúc bậc 3 và thuộc tính đa dạng của nhánh bên các amino acid, protein có thể tạo ra nhiều cấu trúc khác nhau và đảm nhận nhiều chức năng:

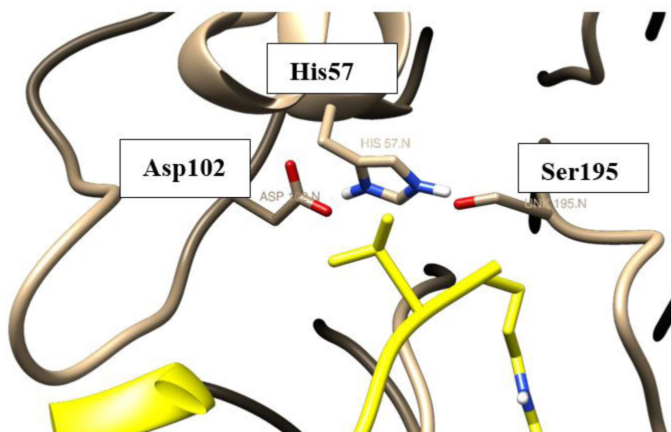
+ Thụ thể (receptor): nhận diện các tín hiệu nội bào hoặc ngoại bào. Các tín hiệu này có thể có bản chất rất đa dạng, có thể là các hormone (vd: thụ thể insulin, oxytocine), các chất dẫn truyền thần kinh (vd: thụ thể adrenaline, acetylcholine, dopamine, GABA), các chất ngoại lai (DNA, polysaccharide của vi khuẩn nhận diện bởi Toll-like receptor) [12], ánh sáng (thụ thể rhodopsin), nhiệt độ (thụ thể TRP) [13] và sự tiếp xúc (thụ thể Piezo2) [14].

+ Enzyme: đảm nhận chức năng chuyển hóa. Protease phân hủy và chuyển hóa các protein và peptide (vd: ACE2 chuyển hóa angiotensine I thành angiotensine II, enzyme TMPRSS cắt mạch peptide trên spike protein của SAR-CoV-2 và giúp protein này trở thành dạng hoạt động; matrix metalloprotease (MMP) cắt các protein mô liên kết như collagen, gelatin, fibronectin đóng vai trò trong quá trình tạo mạch, làm lành vết thương và tái sinh các mô; exopeptidase phân hủy phần đuôi các peptide). Synthase (không dùng ATP), synthetase (dùng ATP) tham gia tổng hợp các chất (vd: HMG-CoA synthetase tham gia tổng hợp cholesterol). Kinase gắn nhóm phosphate để kích hoạt hoặc bất hoạt các protein khác (điển hình là các tyrosine kinase như VEGFR, EGFR).

+ Protein cấu trúc tế bào: actine, tubulin, myosine.

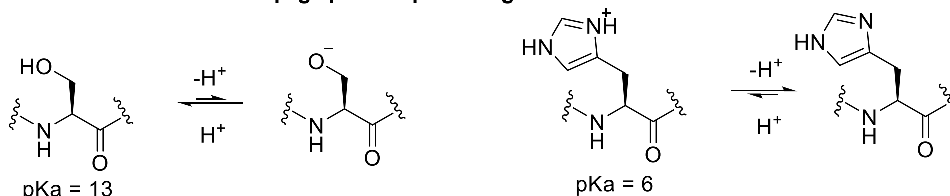
Cấu trúc 3D giúp enzyme có hoạt tính xúc tác

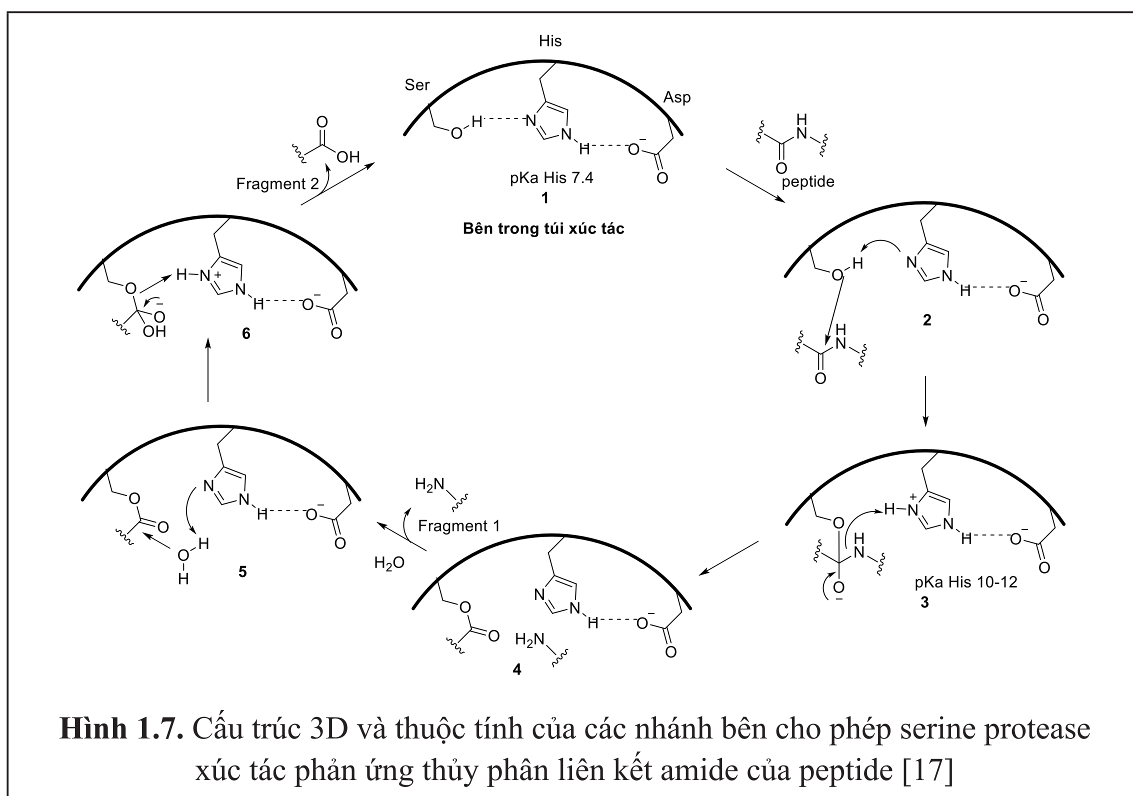
Trong trường hợp serine protease, cấu trúc 3D của protein cho phép enzyme nhận diện cơ chất (substrate) và tạo ra bộ 3 các amino acid Ser, Asp, His ở gần nhau trong không gian (Hình 1.6) để xúc tác phản ứng thủy phân peptide. Liên kết amide rất bền, thời gian bán hủy tự nhiên khoảng 267 năm trong khi enzyme có thể xúc tác phản ứng thủy phân trong vòng dưới vài giây [15].



Hình 1.6. Bộ 3 xúc tác của thrombine (thuộc nhóm serine protease) gắn kết với peptide fibrinogen (màu vàng) (PDB: 1BBR). Cấu trúc tinh thể thể hiện trạng thái trung gian giữa 6 và 1 (Hình 1.7) khi cơ chất đã được cắt nhưng vẫn chưa rời khỏi enzyme

Nhóm -OH nhánh bên của serine (Ser) thường không phản ứng với liên kết amide do hoạt tính không đủ mạnh. Tuy nhiên, Ser của bộ ba xúc tác dễ dàng cho đi proton để trở thành dạng alkoxide RO^-, có tính ái nhân mạnh để xúc tác sự thủy phân. Điều này không thể xảy ra ở điều kiện thông thường (pH 7.4) do nhóm OH nhánh bên của serine có pK_a khoảng 13 (chỉ có ít hơn một trong 10^6 phân tử tồn tại dưới dạng alkoxide). Trong túi xúc tác, nhờ mạng lưới liên kết hydro với His và Asp, pK_a của His túi xúc tác có thể lên tới 10-12 ở trạng thái gắn kết với peptide (nhánh bên của His ở dạng tự do có pK_a khoảng 6) [16], cho phép chuyển Ser thành dạng alkoxide một cách hiệu quả.





Hình 1.7. Cấu trúc 3D và thuộc tính của các nhánh bên cho phép serine protease xúc tác phản ứng thủy phân liên kết amide của peptide [17]

2.2. Khả năng tạo tương tác của các amino acid và protein

- Các amino acid không phân cực (Ala, Val, Phe, Tyr,...) có thể tham gia tạo các tương tác kỵ nước (hydrophobic interaction).

- Các amino acid có nhân thơm có thể tạo liên kết π-π hoặc π-cation.

- Các amino acid có nhánh bên phân cực (không mang điện tích hoặc có điện tích) có thể tạo liên kết hydro.

- Các amino acid nhánh bên mang điện tích có thể tạo các liên kết cầu muối (còn gọi là tương tác tĩnh điện, electrostatic interaction) giữa nhóm có điện tích âm (COO^- của Asp, Glu hoặc của ligand) và nhóm có điện tích dương ($-NH_3^+$ của lysine, guanidinium của arginine).

- Liên kết amide giữa các amino acid cũng có thể tham gia tạo liên kết hydro.

Khả năng tạo tương tác của nhánh bên và liên kết amide đóng vai trò quyết định cho chức năng của protein (nhận diện các phân tử khác, xúc tác phản ứng) và là yếu tố quan trọng cho việc gắn kết của phân tử thuốc lên protein.

Bảng 1.2. Các loại tương tác phân tử thường gặp giữa thuốc và đích tác động [18]

	Tương tác	Khoảng cách	Năng lượng liên kết	Các amino acid
1	Liên kết cộng hoá trị	1.2-1.8 Å	50-150 kcal/mol	--
2	Tương tác tĩnh điện	2.2-4 Å (*)	5-10 kcal/mol	Các AA mang điện tích: Lys, Arg, Glu, Asp, His.
3	Liên kết hydrogen Donor Acceptor	2.5-3.2 Å (giữa H và O trong ví dụ bên trái)	2-5 kcal/mol (phụ thuộc góc liên kết)	Các AA phân cực Ser, Lys, Arg, Glu, Gln, His,… liên kết amide trên backbone.
4	Tương tác không phân cực (van der Waals, London force)	3.0-4.4 Å	0.5-1 kcal/mol	Các AA không phân cực: Ala, Val, Leu, Met, Phe, Tyr,…
5	Tương tác π-cation	3.4-4.0 Å	0.5-5 kcal/mol (phụ thuộc góc liên kết)	Nhân thơm giàu điện tử: Trp, Tyr.
6	Tương tác π-π	3.4-3.8 Å	2-3 kcal/mol (phụ thuộc góc liên kết, T-shape hoặc parallel displacement)	Các AA có nhân thơm: Trp, Tyr, Phe.

* Khoảng cách liên kết tĩnh điện có thể khá xa, tuy nhiên nếu khoảng cách lớn thì đóng góp về mặt năng lượng không còn đáng kể. R = khoảng cách giữa 2 nguyên tử đóng tham gia vào tương tác. Năng lượng liên kết sẽ giảm tỷ lệ thuận với khoảng cách ($1/R^x$).

Tương tác tĩnh điện và tương tác hydro tuy có năng lượng liên kết lớn nhưng trên thực tế đóng góp không đáng kể cho ái lực gắn kết của thuốc lên protein. Các nhóm thế phân

cực trong môi trường nước thường được bao bọc bởi rất nhiều phân tử nước và ion (quá trình solvat hóa). Quá trình tạo thành các liên kết này đòi hỏi cung cấp năng lượng khá lớn để loại bỏ vỏ bọc solvat hóa xung quanh và giảm entropy chuyển động của phân tử thuốc. Liên kết hydro chỉ đóng góp năng lượng liên kết khi môi trường xung quanh tương đối kỵ nước.

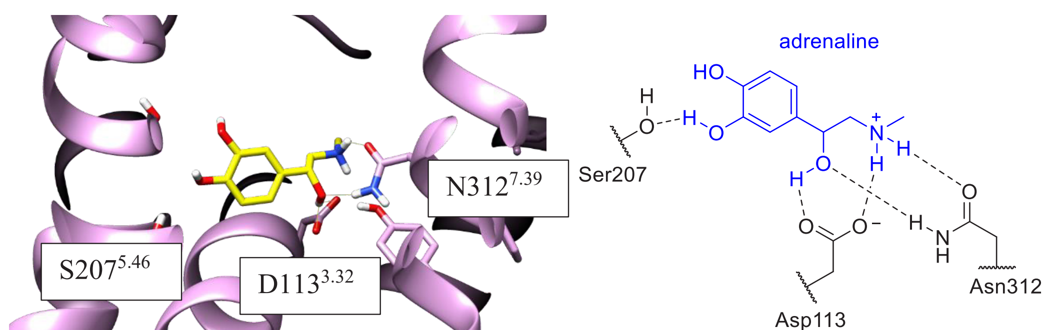
Liên kết hydro thường đóng góp chủ yếu tới sự định hướng gắn kết của phân tử, đảm bảo tính đặc hiệu. Trong khi đó, tương tác kỵ nước đóng góp ái lực và độ mạnh của sự gắn kết. Tương tác kỵ nước là chỉ số duy nhất hiện nay có tương quan rõ ràng và tỷ lệ thuận với ái lực của thuốc lên đích tác động [18] các tương tác khác thường có sự thay đổi lớn phụ thuộc vào môi trường xung quanh.

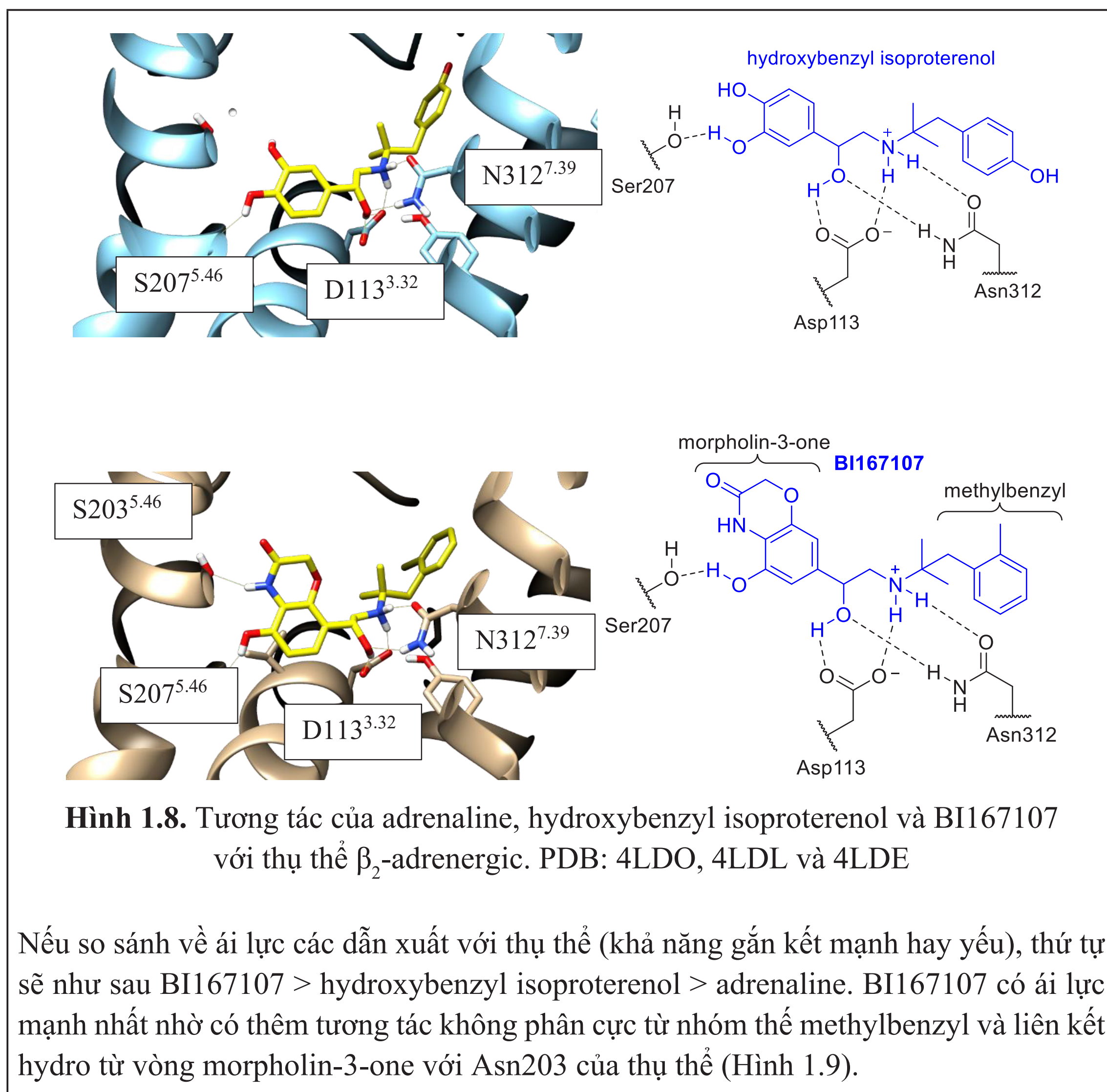
Việc hiểu được thuộc tính và khả năng tạo tương tác của các amino acid đóng vai trò quan trọng trong việc thiết kế và phát triển các thuốc. Thông thường thuốc phải tạo được một số tương tác quan trọng để có ái lực với đích tác động, trong khi loại bỏ hoặc tạo ra một số tương tác khác để có sự chọn lọc và hoạt tính mong muốn.

Thụ thể nhận diện ligand bằng các tương tác đặc hiệu

Như đã đề cập ở phần trên, các tương tác đóng vai trò quan trọng trong việc phối tử (ligand) nhận diện thụ thể.

Trong trường hợp của thụ thể β_2-adrenergic (β_2-AR), các ligand muốn gắn kết lên thụ thể thường phải tạo được tương tác với các vị trí đặc hiệu trên thụ thể. Ví dụ như các dẫn xuất adrenaline [ligand nội sinh (endogenous ligand)], dẫn xuất isoproterenol hay BI167107, mặc dù có các nhóm thế khác nhau nhưng luôn có những điểm gắn kết tương tự trên thụ thể β_2-AR [19]. Các chất nêu trên đều tạo tương tác với Ser207, Asn312, Asp113.





Hình 1.8. Tương tác của adrenaline, hydroxybenzyl isoproterenol và BI167107 với thụ thể β_2-adrenergic. PDB: 4LDO, 4LDL và 4LDE

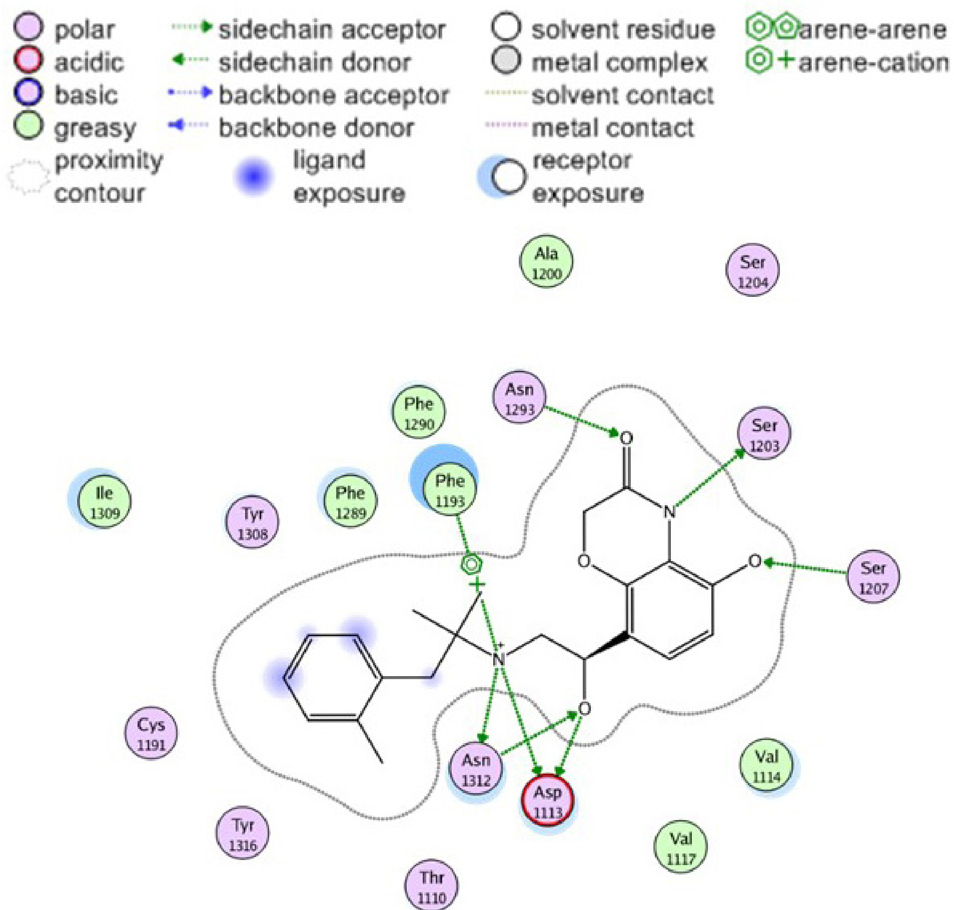
Nếu so sánh về ái lực các dẫn xuất với thụ thể (khả năng gắn kết mạnh hay yếu), thứ tự sẽ như sau BI167107 > hydroxybenzyl isoproterenol > adrenaline. BI167107 có ái lực mạnh nhất nhờ có thêm tương tác không phân cực từ nhóm thế methylbenzyl và liên kết hydro từ vòng morpholin-3-one với Asn203 của thụ thể (Hình 1.9).

Ví dụ nêu trên cho thấy việc hiểu cấu trúc protein và các tương tác giữa ligand và protein (receptor) là yếu tố cực kỳ quan trong việc phát triển thuốc. Đây cũng là yếu tố tiên quyết để hiểu được sự khác biệt về hoạt tính sinh học của các chất có cấu trúc khác nhau.

Câu hỏi lượng giá

Với sự trợ giúp của sơ đồ bên dưới (Hình 1.9), hãy liệt kê các tương tác mà ligand BI167107 có thể tạo ra với các amino acid trên thụ thể β_2-adrenergic.

Ghi chú: số thứ tự các amino acid được thêm số 1 ở phía trước bởi nhóm nghiên cứu. Ví dụ Ser203 được đánh số là Ser1203. Điều này là do phần đuôi N-terminus của thụ thể được nối với 1 protein epitope giúp tinh chế thụ thể. Các amino acid trên peptide và protein luôn được đánh số từ N-terminus, do đó tác giả phải đánh số lại cho tất cả các amino acid. Ligand exposure: các vị trí của ligand hướng ra không gian mở và tiếp xúc với môi trường nước.



Hình 1.9. Sơ đồ tương tác 2D giữa BI167107 và thụ thể β_2-adrenergic. PDB:4LDE

2.3. Các khái niệm thường gặp trong cấu trúc và phân loại protein/thụ thể

Subunit (tiểu đơn vị)

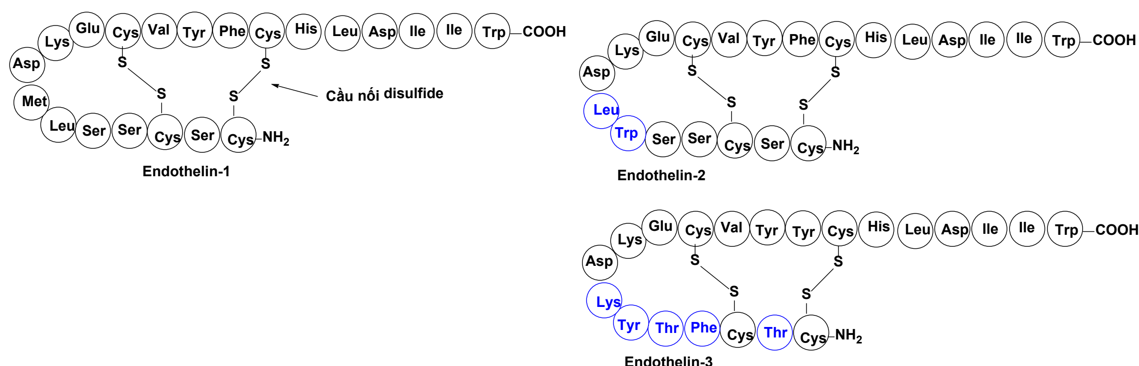
Tiểu đơn vị là các protein đơn lẻ thường kết hợp với các protein khác để tạo thành cấu trúc bậc 4 hoặc các phức hợp. Nếu protein có cấu trúc bậc 4 thì mỗi cấu trúc bậc 3 của protein có thể được gọi là tiểu đơn vị.

Protein domain

Nếu cấu trúc protein có nhiều phần và mỗi phần có cấu trúc tách rời so với các phần còn lại thì mỗi phần đó được gọi là một *domain* (vùng/miền). Ví dụ như thụ thể có hoạt tính tyrosine kinase có domain nội bào và domain ngoại bào. Mỗi domain có thể có chức năng riêng biệt. Thụ thể ở nhân tế bào có domain xúc tác và domain hoạt hóa. Các domain có thể được gập cuộn từ một polypeptide duy nhất, ví dụ như phần đuôi N-terminus gập cuộn thành domain A trong khi phần C-terminus gập cuộn thành domain B.

Isoform (các dạng của cùng protein)

Các protein có thể được tạo ra với một chút thay đổi về mặt cấu trúc. Ví dụ như sự thay đổi về chiều dài, thay đổi một số amino acid trong trình tự. Các protein này có phần lớn cấu trúc vẫn tương đồng nên được gọi là isoform của nhau. Sự khác biệt về cấu trúc có thể có nhiều nguyên nhân như: 1) Được dịch mã từ các gen khác nhau, 2) Dịch mã từ cùng 1 gen nhưng bị cắt ghép (slicing variant), 3) Do biến đổi sau dịch mã bởi các protease. Chức năng của các isoform phần lớn là tương đồng, nhưng vẫn có thể có sự khác biệt trong một số trường hợp.



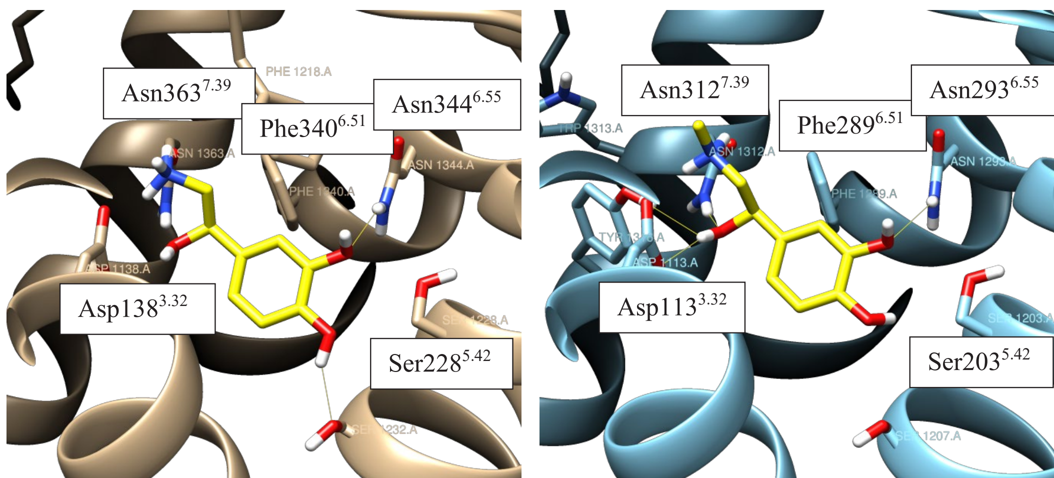
Hình 1.10. Ba isoform của peptide hormone Endothelin (ET-1, ET-2 và ET-3) [20]. Cầu nối disulfide làm bền cấu trúc của hormone. Các amino acid khác biệt giữa các isoform được tô màu xanh dương

Receptor type và subtype (các dạng của một thụ thể)

Một ligand có thể gắn lên một nhóm các thụ thể có cấu trúc tương đồng (receptor types and subtypes). Sự tương đồng về cấu trúc là yếu tố quyết định để phân loại thụ thể

cùng một nhóm. Ngược lại, chức năng sinh học của các receptor subtype có thể hoàn toàn khác nhau. Ví dụ như adrenaline có thể gắn lên các thụ thể β_1, β_2, α_1, α_2. Sự tương đồng cấu trúc của các subtype khác so với thụ thể β_1 lần lượt là 79-80% (β_2-AR), 77% (α_1-AR). Tuy nhiên thụ thể β_1 đóng vai trò trong điều hòa chức năng co bóp của tim trong khi β_2 đóng vai trò trong việc co giãn phế quản. Thuốc điều trị hen suyễn cần có sự kích hoạt chọn lọc thụ thể β_2 trong khi thuốc điều trị suy tim, cao huyết áp cần ức chế chọn lọc thụ thể β_1 để hạn chế tác dụng phụ. Khi thụ thể có nhiều subtype, khả năng chọn lọc của thuốc lên receptor subtype là một yếu tố quan trọng.

Câu hỏi lượng giá



Hình 1.11. Noradrenaline gắn lên thụ thể β_1-adrenergic (hình trái, PDB:7BU6) và adrenaline gắn lên thụ thể β_2-adrenergic (PDB:4LDO)

1. Tìm hiểu và vẽ lại cấu trúc hóa học của noradrenaline và adrenaline.
2. Hai subtype của thụ thể β-adrenergic có cấu trúc túi gắn kết khá giống nhau. Liệt kê và vẽ lại cấu trúc 2D các amino acid tham gia vào tương tác với ligand cho từng thụ thể. Liệt kê các tương tác giữa ligand và thụ thể, phân loại chúng theo thuộc tính (liên kết ion, liên kết hydro, liên kết không phân cực,…).
3. Nêu một vài ý tưởng giúp thiết kế dẫn xuất chọn lọc trên thụ thể β_2-adrenergic. Tìm hiểu một số thuốc chọn lọc trên β_2-adrenergic có trên thị trường.

3. CÁC NHÓM ĐÍCH TÁC ĐỘNG CÓ BẢN CHẤT LÀ PROTEIN

Các protein là đích tác động của thuốc có thể được chia thành 2 nhóm lớn là thụ thể và enzyme như đã nêu ở cuối *phần 2.1.* Mỗi nhóm có thể được chia thành nhiều nhóm nhỏ tùy vào bản chất cấu trúc và chức năng.

- Thụ thể: 1) GPCR; 2) Thụ thể là kênh ion; 3) Thụ thể là kênh vận chuyển; 4) Thụ thể có hoạt tính enzyme; 5) Thụ thể ở nhân,…

- Enzyme: 1) Protease; 2) Kinase; 3) Phosphodiesterase; 4) Polymerase; 5) Oxidoreductase,…

3.1. Thụ thể là đích tác động của thuốc

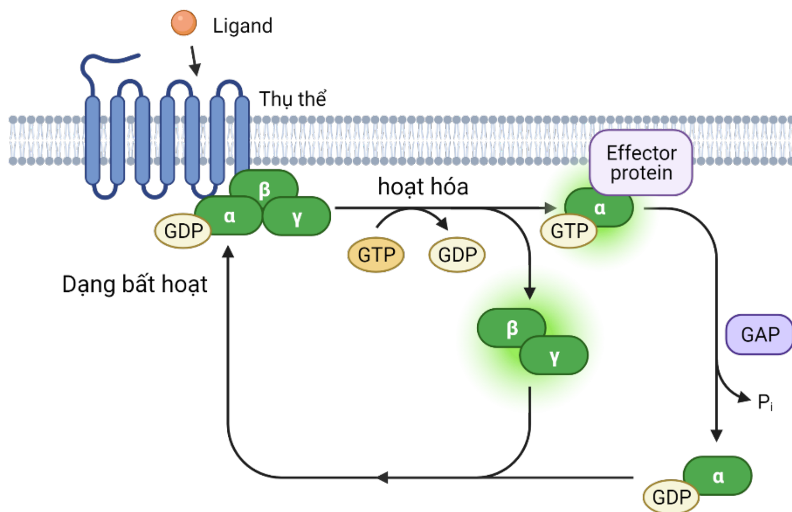
3.1.1. Thụ thể liên kết với protein G (G-proteins coupled receptor)

G-proteins coupled receptor (GPCR) là một trong những đích tác động phổ biến nhất khi mà 30% thuốc có trên thị trường có đích tác động thuộc nhóm thụ thể này [4]. Có thể kể đến các nhóm thuốc phổ biến nhất như thuốc trị hen phế quản, cao huyết áp (beta blocker, chất ức chế thụ thể AT1), thuốc giảm đau (morphine và dẫn xuất, tác động thụ thể opiod μ, δ, κ), thuốc kháng dị ứng H1 (loratadine, certirizine ức chế thụ thể H1), trị loét dạ dày (cimetidine, ức chế thụ thể histamine H2), thuốc trị đau nửa đầu (nhóm triptane tác động lên thụ thể 5-HT1 và 5-HT2). Bộ gen con người có khoảng 30.000 gen thì nhóm GPCR chiếm trên dưới 1000 và có khoảng 800 GPCR đã được phát hiện và phân lập [21]. GPCR là các thụ thể nằm trên màng tế bào. Thụ thể này đảm nhận nhiều chức năng khác nhau như nhận diện các hormone (oxytocine, melatonine), chất dẫn truyền thần kinh (adrenaline, acetylcholine, glutamate, enkephaline, dopamine, serotonin), các yếu tố vật lý (ánh sáng - rhodopsin), tác nhân hóa học và vị giác (taste receptor), mùi (olfactory receptor), điều hòa miễn dịch (các chemokine CCL). Tên gọi "G-proteins coupled receptor" bắt nguồn từ việc các thụ thể này truyền tín hiệu vào bên trong tế bào nhờ các protein G (protein gắn với GTP/GDP).

Ligand - receptor

- Receptor: thụ thể, đích tác động của thuốc.
- Ligand: phối tử, chất gắn lên thụ thể, tương tác với thụ thể. Ligand có thể là chất chủ vận, chất ức chế hoặc chất điều hòa (allosteric) trên thụ thể. Thuốc gắn lên thụ thể, như vậy thuốc là ligand của thụ thể đó. Cetirizine gắn trên thụ thể H1 (Histamine receptor 1) như vậy cetirizine là ligand của thụ thể H1.

Sau khi hoạt chất gắn lên và hoạt hóa thụ thể GPCR, thụ thể này sẽ xúc tiến tạo sự trao đổi GDP với GTP trên protein G (Hình 1.12). Protein G ở dạng bất hoạt (gắn GDP ở tiểu đơn vị α) tồn tại dưới dạng phức hợp của 3 tiểu đơn vị α, β, γ. Sau khi được kích hoạt bởi GPCR, tiểu đơn vị α (gắn GTP) của protein G sẽ phân ly khỏi phức hợp và kích hoạt các protein truyền tín hiệu khác (effector protein) như adenylate cyclase, phospholiphase G, RhoGEP để khuếch đại tín hiệu vào bên trong tế bào.



Hình 1.12. Cơ chế hoạt động của thụ thể GPCR và protein G. Thụ thể GPCR cấu tạo bởi 7 alpha helix xuyên màng tế bào. G protein bao gồm 3 tiểu đơn vị α, β, γ và gắn với GDP ở dạng không hoạt động. Khi được kích hoạt, GDP trên tiểu đơn vị α sẽ được trao đổi với GTP và tiểu đơn vị α gắn GTP sẽ phân ly đến tương tác với effector protein để khuếch đại tín hiệu vào bên trong tế bào. GAP = GTPase activating protein giúp tăng tốc độ thủy phân GTP thành GDP để bất hoạt protein G. Hình được tạo với biorender.com

Có 16 loại tiểu đơn vị α chia thành 4 nhóm: $G\alpha_s$, $G\alpha_i$, $G\alpha_{q/11}$, $G\alpha_{12/13}$. Nhóm $G\alpha_s$ (stimulate) kích hoạt adenylate cyclase và làm tăng nồng độ chất truyền tín hiệu cAMP nội bào, nhóm $G\alpha_i$ (inhibit) ức chế adenylate cyclase và có tác dụng ngược lại. $G\alpha_{q/11}$ làm tăng nồng độ calcium nội bào và $G\alpha_{12/13}$ kích hoạt các protein GTPase như RhoGEP đóng vai trò điều hòa hoạt động của khung xương tế bào (cytoskeleton). Tiểu đơn vị β, γ cũng đóng vai trò trong việc truyền tín hiệu nội bào. Có khoảng 5 loại tiểu đơn vị β và 12 loại tiểu đơn vị γ. Số tổ hợp α, β, γ có thể tồn tại lên tới trên 700 loại [22], do đó quá trình truyền tín hiệu nội bào cực kỳ phức tạp và phụ thuộc rất lớn về loại tế bào, loại mô, vị trí truyền tín hiệu trong tế bào và môi trường nội bào. Thụ thể GPCR chỉ liên kết với một vài loại protein G nhất định, phụ thuộc vào loại thụ thể. Việc truyền tín hiệu của GPCR được dừng lại nhờ protein β-arrestin. Protein này ức chế tương tác của GPCR với protein G và kích hoạt quá trình nhập bào (internalization) để loại bỏ GPCR khỏi màng tế bào.

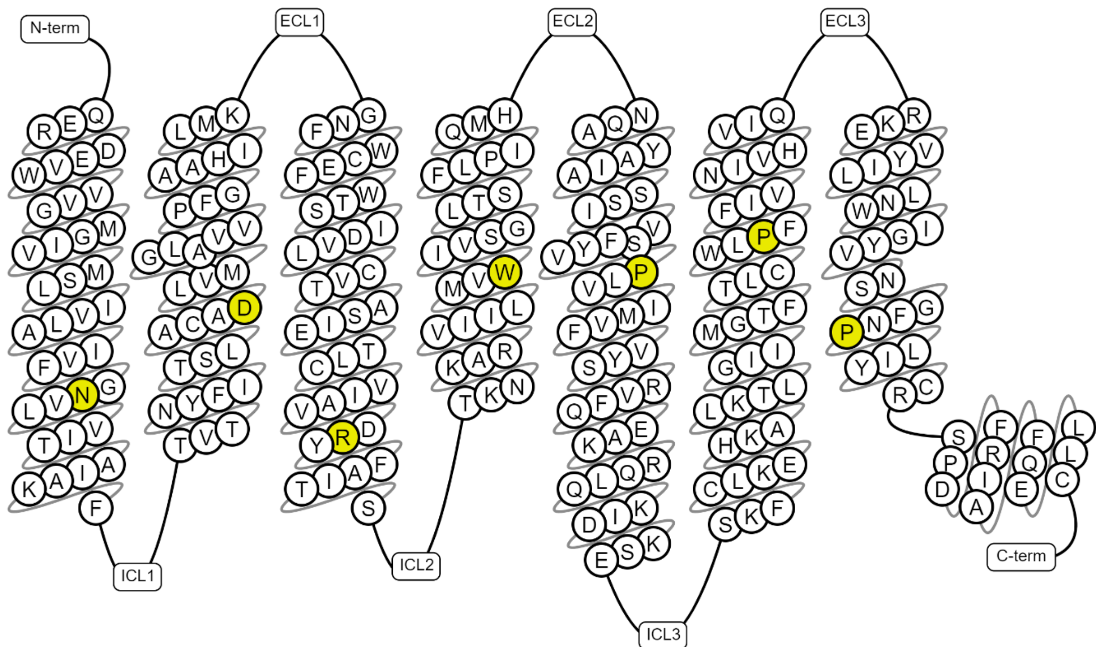
Một GPCR có thể kích hoạt nhiều loại protein G. Các ligand khác nhau có thể làm GPCR kích hoạt các protein G ở các mức độ khác nhau (different transduction efficacy). Vì lý do này, hoạt tính dược lý của các thuốc tác động lên cùng một thụ thể GPCR có thể có sự khác biệt lớn. Có rất nhiều beta-blocker cùng gắn trên một thụ thể nhưng có hoạt tính không hoàn toàn đồng nhất, một phần trong số đó có thể giải thích bởi cơ chế truyền tín hiệu phức tạp của GPCR [23].

Bảng 1.3. Ví dụ các GPCR là đích tác động của thuốc

Nhóm	GPCR	Ligand nội sinh	Thuốc - hoạt chất	Protein G
A	β-AR (β-adrenergic β_1, β_2, β_3)	Adrenaline Noradrenaline	- Beta-blocker (β_1) trị cao huyết áp. - Chất chủ vận β_2 trị hen phế quản. - Chất chủ vận β_3 trị bí tiểu do co thắt cơ niệu đạo.	β_1: liên kết G_s β_2, β_3: liên kết G_s (và trong một số trường hợp G_i)
A	α-AR (α-adrenergic α_1, α_2)	Adrenaline Noradrenaline	Chất chủ vận α_2 trị glaucoma.	α_1: liên kết G_q α_2: liên kết G_i
A	AT1	Angiotensine II	Chất đối vận nhóm sartan trị cao huyết áp.	G_q
A	mAchR (Muscarinic acetylcholine receptor)	Acetylcholine	Đối vận: atropine, ipratropium, scopolamine trị hen phế quản và say tàu xe	Tùy loại thụ thể M_1: G_q M_2: G_i (ở tim) M_3: G_q (phổi, mạch máu) M_4: G_i M_5: G_q
A	H_1	Histamine	Chất đối vận (ức chế) trị viêm và dị ứng (nhóm antihistamine).	G_q
A	H_2	Histamine	Chất đối vận trị loét dạ dày	G_q, G_s
A	μ-OR δ-OR κ-OR (Mu-Delta-Kappa opioid receptor)	Endorphine Enkephaline	Chất đồng vận μ-OR, δ-OR (nhóm morphine và dẫn xuất) giúp giảm đau.	G_i

Cấu trúc tổng quát

Dựa trên cấu trúc, thụ thể GPCR được tạo nên từ 7 alpha helix xuyên qua màng tế bào (Hình 1.13). Trong một số trường hợp có helix 8 như chỉ neo phía trong màng tế bào chứ không xuyên qua màng tế bào. Phần N-terminus ở ngoài tế bào và phần C-terminus ở bên trong tế bào. Phần N-terminus và các cung ngoại bào (extracellular loop, ECL) nối các alpha helix tạo nên túi gắn kết ligand. Phần C-terminus và các cung nội bào (intracellular loop, ICL) đóng vai trò tương tác với protein G và các protein khác. Các thụ thể GPCR được chia thành nhiều nhóm, trong đó có 3 nhóm chính: nhóm A, B, C. Nhóm A (85% GPCR) có cấu trúc tương đồng với rhodopsin, nhóm B tương đồng với thụ thể secretin, nhóm C tương đồng với thụ thể glutamate (mGlu). Gần đây phân loại GRAFT dựa trên nguồn gốc các GPCR (phylogenetic) cũng được sử dụng phổ biến [24].



Hình 1.13. Trình tự và cấu trúc tổng quát 7 alpha helix của thụ thể β_2-adrenergic. Các amino acid được bảo tồn nhất ở các GPCR nhóm A được hiển thị màu vàng. Hình được tạo với gpcrdb.org

Danh pháp Ballesteros-Weinstein

Vì GPCR có sự tương đồng về cấu trúc tổng thể nên Ballesteros-Weinstein đề xuất danh pháp giúp so sánh các GPCR một cách dễ dàng [25]. Danh pháp này được sử dụng phổ biến trong việc thiết kế thuốc và nghiên cứu dược lý về GPCR.

Cấu trúc danh pháp gồm 2 phần X.YZ cách nhau bởi dấu chấm. Các amino acid được bảo tồn nhất trên từng alpha helix sẽ được đánh số 50. Ví dụ như GPCR nhóm A luôn

có các amino acid $N^{1.50}$, $D^{2.50}$, $R^{3.50}$, $W^{4.50}$, $P^{5.50}$, $P^{6.50}$, $P^{7.50}$ nằm trên các alpha helix tương ứng từ 1-7. Các amino acid còn lại sẽ được đánh số dựa trên vị trí tương đối so với amino acid bảo tồn nhất.

Danh pháp Ballesteros-Weinstein

$W261^{6.48}$

Tên thông thường

Ví dụ như tryptophane có vị trí 261 (tính từ N-terminus), tên thông thường là W261. Theo danh pháp Ballesteros-Weinstein sẽ là 6.48, trong đó:

- Số 6: chỉ helix thứ 6 trong số 7 alpha helix tạo thành GPCR.
- Số 48: chỉ vị trí tương đối so với amino acid được bảo tồn nhất trên helix đó. Vị trí 48 sẽ cách $P^{6.50}$ hai amino acid về phía N-terminus, trong khi vị trí 53 sẽ cách ba amino acid về phía C-terminus. Ví dụ như (N-terminus)-…-$W^{6.48}$-X-$P^{6.50}$-X-X-$L^{6.53}$-...-(C-terminus).

Lợi thế của danh pháp này là khả năng so sánh sự tương đồng cấu trúc của các GPCR khác mà không bị ảnh hưởng bởi kích thước và chiều dài của chuỗi polypeptide tạo nên GPCR. Ví dụ như vị trí 6.48 trên thụ thể β_2-adrenergic là tryptophane ($W286^{6.48}$) thì trên các thụ thể tương tự như β_1-adrenergic ($W337^{6.48}$) hay xa hơn như histamine receptor W428 ($H1^{6.48}$), opiod receptor ($W295^{6.48}$) cũng có tryptophane ở vị trí này. Hơn nữa, các amino acid có cùng danh pháp Ballesteros-Weinstein thường đảm nhận chức năng khá giống nhau trong quá trình hoạt hóa receptor hoặc liên kết với ligand (xem câu hỏi lượng giá *phần 2.3*).

Các phương pháp để phát triển thuốc tác động lên thụ thể GPCR

Nhìn chung, việc phát triển thuốc nhắm vào thụ thể GPCR khá khó khăn so với các nhóm đích tác động khác do bản chất của chúng là protein màng tế bào, cấu trúc cực kỳ linh động và hoạt tính phụ thuộc vào sự hiện diện của các protein đối tác bên trong tế bào (protein G và các effector protein). Một số phương pháp sau đây thường được sử dụng.

- Bắt chước cấu trúc ligand nội sinh. Thường được áp dụng với các GPCR gắn với phân tử nhỏ như các amine (adrenaline, histamine, dopamine).

- Bắt nguồn từ các hoạt chất tự nhiên có hoạt tính (nhóm morphin, nhóm tryptan).

- Sàng lọc từ thư viện chất. Thường được áp dụng trong phần lớn các trường hợp, đặc biệt là các GPCR có ligand nội sinh là peptide (angiotensin II, vasopressine, endothelin) và có túi liên kết với ligand khá lớn.

- Phát triển thuốc mới dựa vào cấu trúc GPCR. Rất khó để có cấu trúc tinh thể của GPCR do protein không bền ở bên ngoài màng tế bào, do đó phương pháp này ít được sử dụng. Tới 2021, chỉ có khoảng 50 GPCR được giải cấu trúc bằng X-ray. Tuy nhiên các kỹ thuật nghiên cứu cấu trúc gần đây như cryo-EM hay mô phỏng màng tế bào bằng nanodisc đang mang lại nhiều kết quả khả quan và có thể là tiền đề để áp dụng phương pháp phát triển thuốc dựa vào cấu trúc GPCR.

Tác động của thuốc lên thụ thể thuộc nhóm GPCR khá phức tạp

Các ligand khi gắn lên thụ thể, kích hoạt thụ thể và các chuỗi truyền tín hiệu được gọi là chất chủ vận (agonist). Các ligand gắn lên thụ thể nhưng giữ thụ thể ở trạng thái bất hoạt và không kích hoạt các chuỗi truyền tín hiệu được gọi là chất đối vận (antagonist). Các khái niệm này sẽ được làm rõ hơn trong chương tiếp theo về dược lực học (pharmacodynamics).

Các phép thử *in vitro* và *in cellulo* trên GPCR bao gồm:

- Đo ái lực của ligand với thụ thể - đánh giá khả năng gắn kết (cho ra giá trị K_d; K_i).

- Đo khả năng của ligand kích hoạt các chuỗi truyền tín hiệu liên kết với thụ thể - cho phép đánh giá ligand là chất chủ vận hay đối vận. Phép thử này khai thác các thành phần chuỗi truyền tín hiệu như các protein G; các effector protein (adenylate cyclase hay phospholipase C); nồng độ các chất truyền tín hiệu thứ cấp như cAMP, Ca^{2+}, IP_3; sự hoạt hóa các protein ở cuối chuỗi truyền tín hiệu Akt, ERK1/2, MAPK). Các phép thử này thường cho ra giá trị EC_{50} (half maximal effective concentration hay nồng độ hữu hiệu tạo ra 50% hoạt tính - so với hoạt tính tối đa) dùng để so sánh giữa các ligand. Các nghiên cứu cơ bản còn đề cập tới khái niệm hiệu quả truyền tín hiệu nội bào (transduction efficacy, τ/KA) để so sánh các chuỗi truyền tín hiệu khác nhau kích hoạt bởi cùng một ligand.

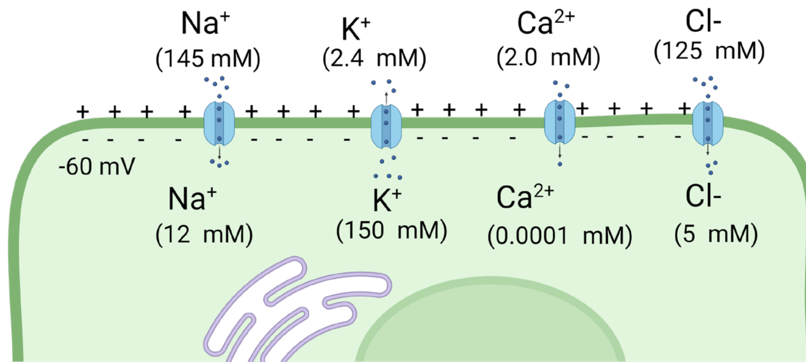
Gần đây một số ligand tác động lên GPCR cho thấy chúng có thể là chủ vận trên một số chuỗi truyền tín hiệu này nhưng là đối vận trên một số chuỗi truyền tín hiệu khác [26]. Các ligand này có thể được gọi là ligand không cân bằng (biased ligand). Vì mỗi chuỗi truyền tín hiệu (G_s vs G_q vs β-arrestin) có thể liên kết với các hoạt tính dược lý khác nhau. Ligand không cân bằng (biased ligand) có thể cho phép kích hoạt chuỗi truyền tín hiệu liên kết với hoạt tính mong muốn trong khi loại bỏ chuỗi truyền tín hiệu liên kết với các tác dụng phụ, tất cả bằng cách tác động lên cùng một thụ thể. Khái niệm này vẫn đang được phát triển và là đề tài tranh luận trong giới khoa học hiện nay.

3.1.2. Thụ thể là kênh ion (ion channel receptor)

Các ion mang điện tích (Na^+, K^+, Ca^{2+}, Cl^-) rất phân cực và không thể thấm thụ động qua màng tế bào (phospholipid kém phân cực), do đó phải di chuyển qua lại nhờ vào các kênh ion. Các kênh ion được cấu tạo từ nhiều tiểu đơn vị protein (subunit) kết hợp với

nhau tạo ra cấu trúc dạng ống xuyên qua màng tế bào giúp ion đi qua. Nồng độ ion trong và ngoài tế bào sống luôn ổn định do đó các kênh ion luôn được kiểm soát rất chặt chẽ.

Nồng độ ion nội bào và ngoại bào



Hình 1.14. Nồng độ ion trong và ngoài màng tế bào rất ổn định và được duy trì bằng nhiều cơ chế. Hình được tạo với biorender.com

Na^{+}, Ca^{2+}, Cl^{-} là các ion có nồng độ cao ở bên ngoài tế bào, trong khi K^{+} là ion có nồng độ cao bên trong tế bào. Nồng độ protein trong tế bào rất cao cũng đóng góp phần lớn vào điện tích âm bên trong tế bào. Do sự chênh lệch nồng độ ion lớn, có một hiệu điện thế tồn tại giữa trong và ngoài màng tế bào (-60 mV) [1]. Khi các ion có điện tích dương (Na^{+}, Ca^{2+}) đi vào trong tế bào sẽ gây hiện tượng khử cực (giảm hiệu điện thế màng tế bào) và gây ra đáp ứng sinh học (dẫn truyền thần kinh, giải phóng chất dẫn truyền thần kinh, co thắt cơ tim). Ngược lại khi các ion âm (Cl^{-}) đi vào trong tế bào sẽ gây tăng sự phân cực và ức chế hoạt động dẫn truyền thần kinh. Do đó kiểm soát kênh ion sẽ kiểm soát hoạt động của tế bào.

Có 2 cơ chế kiểm soát chủ yếu việc đóng mở các kênh ion [27]:

- Kiểm soát bằng ligand (ligand-gated ion channel, LGIC): các thụ thể kênh ion như GABA, nAchR, AMPAR, NMDA. Ligand có thể là các chất dẫn truyền thần kinh hay các ion khác.

- Kiểm soát bởi hiệu điện thế (voltage gated ion channel, VGIC): các kênh ion calcium như Ca_{v} 1.1.

Việc đóng mở kênh ion tạo ra hệ quả trực tiếp là thay đổi nồng độ ion nội bào. Do đó đáp ứng sinh học khá nhanh chóng. Chúng thường liên quan tới các hoạt động dẫn truyền thần kinh, co thắt cơ điều khiển mạch máu và cơ tim. Các nhóm thuốc tác động lên kênh ion thường là thuốc gây tê, gây mê, an thần, liệt cơ, trị cao huyết áp và loạn nhịp tim. Có thể kể đến các thuốc như procaine, isoflurane, diazepam, nhóm cura, nhóm chẹn kênh calcium nhân dihydropyridine.

Kênh ion thường có 3 trạng thái: mở (active), đóng (inactive) và trạng thái nghỉ (resting). Ở trạng thái đóng (inactive), kênh ion không thể bị kích hoạt trong khi ở trạng thái nghỉ (resting), kênh ion có thể bị kích hoạt để mở trở lại.

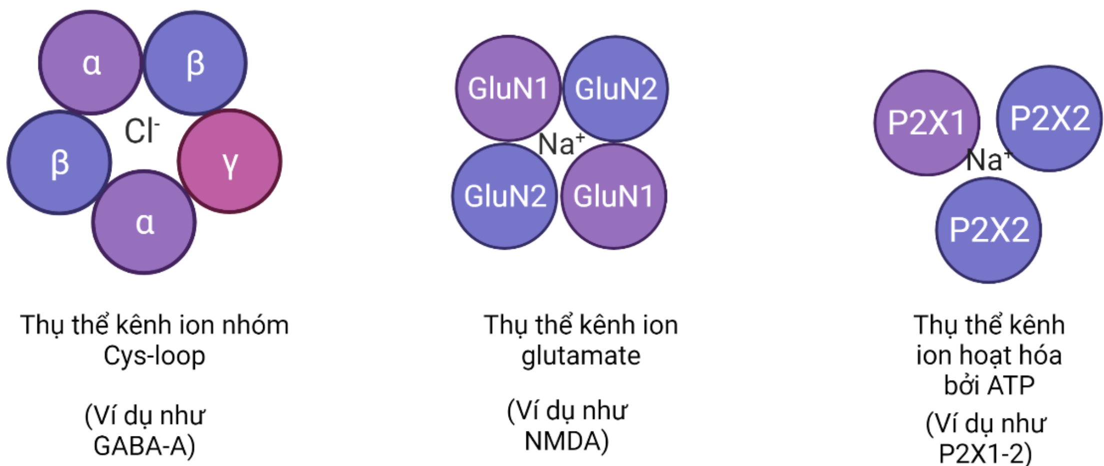
Kênh ion kiểm soát bởi ligand (ligand-gated ion channel, LGIC)

Kênh ion kiểm soát bởi ligand (LGIC) có nhiều nhóm khác nhau được cấu tạo từ nhiều tiểu đơn vị (subunit) [27]:

- Cys-loop receptor: có cấu trúc gồm 5 tiểu đơn vị (heteropentamer). Phần đuôi N-terminus ngoại bào có cầu nối disulfide giữa 2 cystein nên được gọi là cys-loop receptor. Đại diện nhóm này là thụ thể acetylcholine nicotinic, thụ thể GABA. Vị trí gắn của ligand thường nằm ở giữa 2 tiểu đơn vị.

- Ionotropic glutamate receptor: có cấu trúc gồm 4 tiểu đơn vị (thường là dimer của dimer) [28]. Nhóm này có thể chia thành 3 nhóm nhỏ là thụ thể AMPA, NMDA và kainate. Tất cả các thụ thể trên đều được hoạt hóa bởi glutamate nhưng cấu trúc có sự khác biệt nhỏ và có thể gắn các ligand chọn lọc như AMPA, N-methyl-D-aspartate (NMDA) và kainate. Vị trí gắn của ligand nằm ở domain ngoại bào ở mỗi tiểu đơn vị.

- ATP-gated ion channel (kênh ion hoạt hóa bởi ATP): có cấu trúc gồm 3 tiểu đơn vị (trimer hoặc heterotrimer). Ví dụ của nhóm này là thụ thể P2X.



Hình 1.15. Cấu trúc tổng quát của thụ thể Cys-loop, thụ thể kênh ion glutamate, thụ thể kênh ion hoạt hóa bởi ATP. Nhóm Cys-loop có dạng pentamer bao gồm 2 tiểu đơn vị α và 3 tiểu đơn vị khác (β, γ, δ), mỗi tiểu đơn vị gồm 4 alpha helix xuyên màng tạo ra kênh ion. Thụ thể kênh ion glutamate cấu tạo bởi 4 tiểu đơn vị, thường là dimer của dimer, mỗi monomer (subunit) gồm 3 alpha helix xuyên màng và 1 không xuyên màng (tạo 1 loop rồi quay về bên trong tế bào). Nhóm kênh ion hoạt hóa bởi ATP có 3 tiểu đơn vị. Hình được tạo bởi biorender.com

Bảng 1.4. Ví dụ một số LGIC là đích tác động của thuốc

Thụ thể kênh ion	Ion	Ligand nội sinh	Hoạt chất tác động	Cơ chế của hoạt chất
Thụ thể nhóm Cys-loop				
GABA receptor	Cl^-	GABA	Diazepam, barbiturate, ethanol, isoflurane	Cảm ứng
nAchR	Na^+, K^+	Acetylcholine	Nicotin, pacuronium	Ức chế
GlyR	Cl^-	Glycine	Strychnin, brucin	Ức chế
5-HT_3	Na^+, K^+	Serotonine	Thuốc chống nôn nhóm setron	Ức chế
Thụ thể kênh ion của glutamate				
NMDA receptor	Na^+, K^+	Glutamate	NMDA Ketamine	Hoạt hóa Ức chế
AMPA receptor	Na^+, K^+, Ca^{2+}	Glutamate	AMPA	Hoạt hóa
Kainate receptor	Na^+, K^+	Glutamate	Kainate	Hoạt hóa
Thụ thể kênh ion kích hoạt bởi ATP				
P2X	Na^+, Ca^{2+}	ATP	Suramine	Ức chế

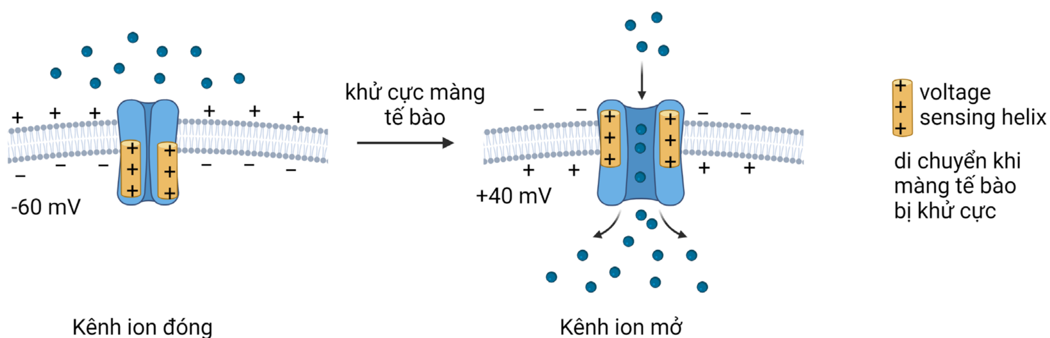
Hình 1.16. Cấu trúc các ligand nội sinh và một số ví dụ về hoạt chất tác động lên thụ thể kênh ion

Ví dụ phổ biến nhất của LGIC nhóm Cys-loop là các thụ thể $GABA_A$ (thụ thể của gamma-amino butyric acid). Thụ thể GABA cho phép ion Cl^- đi vào trong tế bào. Hiện tượng này làm tăng sự phân cực của màng tế bào và ức chế hoạt động neuron thần kinh. Trên thực tế, gamma-amino butyric acid là dẫn truyền thần kinh có tính chất ức chế. $GABA_A$ là đích tác động của các thuốc an thần, gây ngủ phổ biến nhóm benzodiazepine. Ligand GABA thường gắn giữa 2 tiểu đơn vị α, β trong khi diazepam gắn giữa hai tiểu đơn vị α, γ. Cần lưu ý là GABA có 2 loại thụ thể, thụ thể $GABA_A$ và $GABA_B$. Thụ thể $GABA_A$ là kênh ion nhóm Cys-loop còn thụ thể $GABA_B$ thuộc nhóm GPCR và không phải là kênh ion. Tương tự như GABA, thụ thể của glutamate và serotonine cũng có 2 nhóm: nhóm thụ thể kênh ion (trình bày ở phần này) và nhóm thụ thể GPCR (phần trước đó).

Thuốc nhằm vào nhóm thụ thể kênh ion thường bắt nguồn từ việc sàng lọc các hợp chất tổng hợp (diazepam, barbiturate), các chất có nguồn gốc tự nhiên (nhóm cura).

Kênh ion kiểm soát bởi điện thế màng tế bào (voltage-gated ion channel, VGIC)

Hiện tượng khử cực màng tế bào cũng gây mở một số kênh ion VGIC. Các kênh này có cấu trúc gồm nhiều helix xuyên qua màng tế bào, trong đó có domain cảm nhận điện thế màng (voltage sensing helix). Domain này thường chứa một dãy liên tiếp các amino acid mang điện tích dương (Arg, Lys). Sự thay đổi của điện thế màng tế bào sẽ làm di chuyển các amino acid này và thay đổi cấu trúc kênh ion, cho phép ion đi vào bên trong tế bào. Sự khử cực màng tế bào thường xảy ra nhờ các xung thần kinh (action potential) từ các neuron.



Hình 1.17. Cơ chế đóng mở kênh ion kiểm soát bởi điện thế màng tế bào. Voltage sensing helix di chuyển dựa theo điện thế màng tế bào. Hình ảnh được tạo với BioRender.com

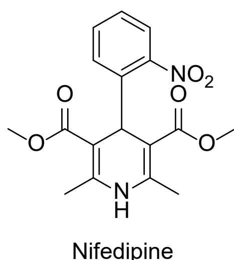
Tương tự như kênh ion kiểm soát bởi ligand LGIC, các kênh ion VGIC tham gia vào quá trình dẫn truyền thần kinh và kiểm soát sự hoạt động của hệ tim mạch. Các nhóm thuốc tác động lên VGIC bao gồm các chất chẹn kênh calcium trị cao huyết áp nhóm dihydropyridine (DHP), verapamil, thuốc gây tê (lidocaine), thuốc trị động kinh (gabapentin), thuốc giảm đau (ziconotide).

Do các thụ thể VGIC không có ligand nội sinh nên việc phát triển thuốc dựa vào sàng lọc các thư viện chất hoặc phát triển từ các hợp chất tự nhiên có hoạt tính.

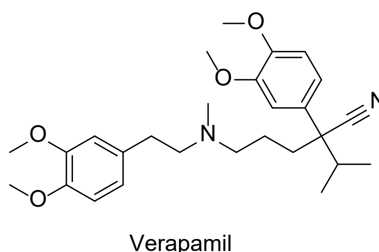
Bảng 1.5. Ví dụ một số VGIC là đích tác động của thuốc

Thụ thể kênh ion	Ion	Thuốc	Cơ chế/chỉ định
L-type Ca^{2+}	Ca^{2+}	Nifedipine Verapamil	Ức chế/trị cao huyết áp Ức chế/trị cao huyết áp, loạn nhịp
Na_v	Na^+, K^+	Lidocain	Ức chế/gây tê
Ca_v ($\alpha_2\delta$)	Ca^{2+}	Gabapentin Pregabalin	Hoạt hóa/trị động kinh
Ca_v 2.2	Ca^{2+}	Ziconotide	Ức chế/giảm đau

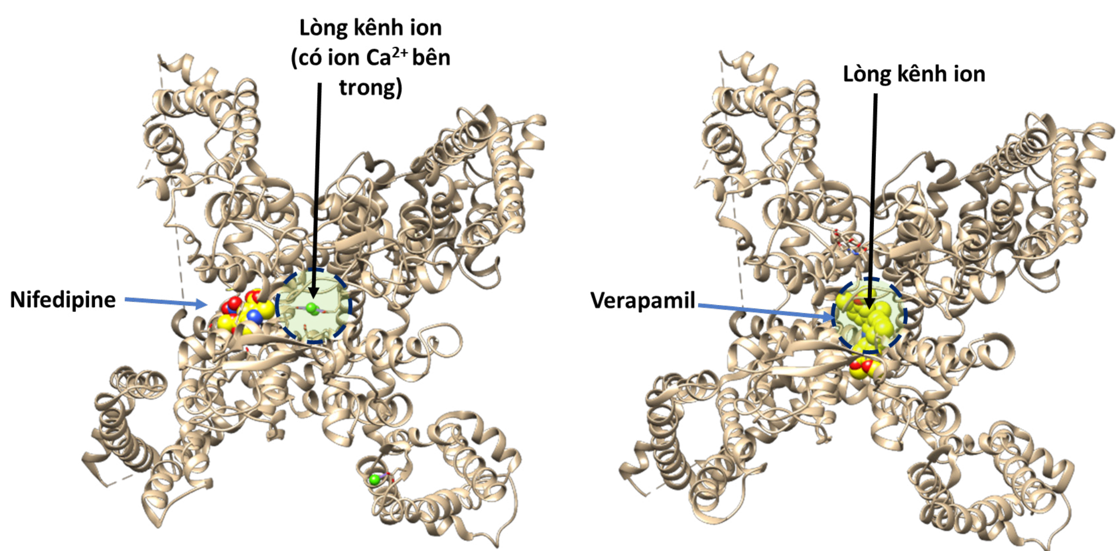
Các nhóm thuốc tiêu biểu bao gồm các chất chẹn kênh calcium L-type như nhóm DHP, diltiazem, verapamil [29]. Mặc dù cùng tác động lên 1 protein đích, vị trí gắn khác nhau và ái lực với trạng thái của kênh ion (mở/đóng/nghỉ) dẫn đến hoạt tính của các chất này khác nhau. Các chất nhóm DHP (nifedipine) gắn ở bên ngoài lòng kênh ion (không phụ thuộc trạng thái đóng hay mở), có ái lực cao với kênh ion ở trạng thái đóng nên hoạt tính chọn lọc trên mạch máu (đợi kênh ion chuyển sang trạng thái đóng - bất hoạt). Ngược lại, verapamil gắn sâu bên trong lòng kênh ion và có ái lực cao với kênh ion ở trạng thái mở, do đó hoạt tính phụ thuộc vào tần suất đóng/mở của kênh ion [30]. Vị trí gắn chặn dòng ion đi qua kênh. Ở tim, tần suất đóng mở của kênh ion cao hơn, do đó verapamil có hoạt tính tốt trên tim, giúp điều trị loạn nhịp tim.



Nifedipine



Verapamil



Hình 1.18. Vị trí gắn của nifedipine và verapamil trên kênh calcium L-type Ca_v 1.1. Nifedipine gắn bên ngoài lòng kênh trong khi verapamil gắn bên trong lòng kênh và chặn dòng ion đi qua. Hình ảnh nhìn dọc trục kênh ion, từ ngoài tế bào nhìn vào. PDB: 6JP5 (nifedipine) và 6JPA (verapamil).

Kênh ion calcium

Kênh ion calcium có nhiều loại khác nhau:

- Kênh ion calcium kiểm soát bởi ligand: thụ thể ryanodine, thụ thể IP_3. Hai thụ thể này đóng vai trò giải phóng calcium từ lưới nội bào (endoplasmic reticulum).
- Kênh ion calcium kiểm soát bởi điện thế màng Ca_v: dựa vào đặc điểm (cấu trúc, ngưỡng kích hoạt, phân bố trong các mô), chúng có thể được chia thành nhiều nhóm nhỏ (Bảng 1.6) [1].

Kênh ion kiểm soát bởi điện thế màng (voltage) luôn được ký hiệu bởi chữ "v" nhỏ sau ký hiệu của ion. Ví dụ như Ca_v 1.1, Na_v.

Bảng 1.6. Các loại kênh ion calcium kiểm soát bởi điện thế màng[1]

Loại kênh calcium	Đặc tính	Phân bố
L-type	Ngưỡng kích hoạt cao, bất hoạt chậm	Phân bố ở cơ vân mạch máu và cơ tim. Nhóm này ức chế bởi DHP, verapamil, diltiazem
N-type	Ngưỡng kích hoạt thấp, bất hoạt chậm	Phân bố ở các đầu mút thần kinh. Ức chế bởi ziconotide

Loại kênh calcium	Đặc tính	Phân bố
T-type	Ngưỡng kích hoạt thấp, bị bất hoạt nhanh chóng	Phân bố ở các tế bào tạo nhịp
P/Q-type	Ngưỡng kích hoạt thấp, bất hoạt chậm	Phân bố ở đầu mút thần kinh
R-type	Ngưỡng kích hoạt thấp, bất hoạt nhanh	Phân bố ở neuron và các tế bào gai thần kinh (dendrite)

Chú thích: Ngưỡng kích hoạt ở đây là điện thế màng tế bào.

3.1.3. Thụ thể là kênh vận chuyển (transporter/carrier)

Kênh vận chuyển dùng để đưa các ion và phân tử qua màng tế bào thuận theo chiều gradient nồng độ. Tương tự như ion, một số chất hữu cơ rất phân cực và không thấm qua màng tế bào như peptide, đường glucose hoặc thấm khá chậm như các amine phân cực (serotonin, adrenaline) [31], chúng cần được sự hỗ trợ của kênh vận chuyển để đi vào trong tế bào. Các phân tử nêu trên liên quan đến chuyển hóa năng lượng (glucose), dẫn truyền thần kinh (serotonin, noradrenaline), cân bằng muối và nước (ion Na^+, Cl^-) do đó thuốc nhắm đến kênh vận chuyển thường thuộc nhóm trị đái tháo đường, các rối loạn thần kinh (trầm cảm), thuốc lợi tiểu.

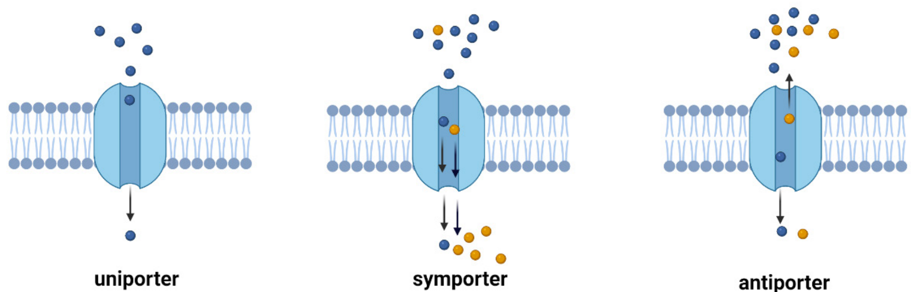
Sự khác biệt nổi trội giữa kênh ion và kênh vận chuyển là kênh vận chuyển có thể vận chuyển một số lượng có giới hạn các ion trong một chu kỳ vận chuyển, chúng có thể vận chuyển các phân tử khác trong khi kênh ion chỉ vận chuyển ion.

Có 3 loại kênh vận chuyển [27]:

- Uniporter: vận chuyển 1 phân tử cùng một lúc.

- Symporter: vận chuyển 2 phân tử cùng một lúc đi cùng chiều. Trong đó có 1 phân tử đi thuận theo gradient nồng độ.

- Antiporter: vận chuyển 2 phân tử cùng một lúc theo 2 chiều khác nhau. Trong đó có 1 phân tử đi theo gradient nồng độ.



Hình 1.19. Các loại kênh vận chuyển. Phân tử A (màu xanh) luôn đi theo gradient nồng độ trong khi phân tử B (màu vàng) có trường hợp được vận chuyển ngược chiều gradient nồng độ. Hình được tạo với biorender.com

Chỉ một vài transporter là đích tác động của thuốc. Được biết đến nhiều nhất là các thuốc ức chế SERT (kênh vận chuyển serotonin), NET (kênh vận chuyển norepinephrine), hay ức chế tái hấp thụ serotonine và norepinephrine ở các synap thần kinh - đây là trị liệu tiêu chuẩn cho trầm cảm. Tuy nhiên thời gian cần để phát huy tác dụng khá lâu.

Thuốc trị tiểu đường ức chế tái hấp thụ glucose (ức chế kênh SGLT2), cho tác dụng kiểm soát đường huyết tốt. Gần đây empagliflozin trong nhóm này cho thấy hiệu quả trong một số bệnh tim mạch như suy tim có chỉ số EF (ejection fraction) bảo tồn [32], một loại suy tim mà trước đây hoàn toàn kháng trị với ACEI, chẹn beta hay đối vận thụ thể AT1 (nhóm sartan).

Thuốc lợi tiểu (ức chế NCC và NKCC) được dùng để giảm phù và giảm tiền tải (tiền gánh) cho tim trong các bệnh lý suy tim, cao huyết áp.

Bảng 1.7. Ví dụ các kênh vận chuyển là đích tác động của thuốc

Kênh vận chuyển	**Nhóm**	**Cơ chất**	**Thuốc**	**Cơ chế/chỉ định**
SERT Serotonin transporter	Symporter	serotonine + NaCl đi vào; K^+ đi ra	Fluoxetine, escitalopram	Chống trầm cảm
NET Norepinephrine transporter	Symporter	norepinephrine NaCl	Methylphenidate	Chống trầm cảm, ADHD
SGLT Sodium-glucose transporter	Symporter	glucose Na^+	Canagliflozin, empagliflozin	Điều trị tiểu đường
NCC	Symporter	Na^+/Cl^-	Thiazide	Lợi tiểu
NKCC	Symporter	$Na^+/K^+/Cl^-$		Lợi tiểu

3.1.4. Thụ thể có hoạt tính kinase (kinase-linked receptor)

Thụ thể có hoạt tính tyrosine kinase cũng là các protein ở màng tế bào. Khác với GPCR, chúng truyền tín hiệu vào bên trong tế bào nhờ hoạt tính kinase ở phần cấu trúc bên trong tế bào. Các ligand của thụ thể tyrosine kinase thường là các yếu tố tăng trưởng (EGF, VEGF, FGF), cytokine và một vài hormone như insulin và leptin. Các thụ thể có hoạt tính kinase đóng vai trò trong việc tăng trưởng, phân bào, biệt hóa tế bào, là một thành phần quan trọng trong việc sửa chữa các mô trong cơ thể, hình thành phản ứng miễn dịch và quá trình tạo viêm.

Kinase

Kinase là enzyme có chức năng gắn nhóm phosphate lên protein khác. Vị trí gắn là các nhóm hydroxy của tyrosine/serine/threonine (xem Bảng 1.1 để biết cấu trúc các amino acid này). Nếu enzyme gắn nhóm phosphate lên tyrosine thì được gọi là tyrosine kinase. Tương tự với serine và threonine, ta có serine kinase và threonine kinase.

Việc gắn nhóm phosphate có thể kiểm soát trạng thái của protein. Ví dụ như protein MAPK được sinh tổng hợp ở dạng bất hoạt và cần được gắn nhóm phosphate để trở thành dạng hoạt động. Bản thân MAPK là một kinase, khi ở dạng hoạt động nó sẽ gắn nhóm phosphate để kích hoạt các protein khác. Hiện tượng chuỗi các protein gắn nhóm phosphate cho nhau (phosphorylation cascade) để kích hoạt hay bất hoạt khá phổ biến trong các quá trình sinh học. Chúng tạo thành một hệ thống truyền thông tin và kiểm soát các quá trình trong tế bào.

Thụ thể có hoạt tính kinase được chia làm 3 nhóm:

(1) Receptor tyrosine kinase: vùng nội bào có hoạt tính tyrosine kinase.

(2) Receptor serine/threonine kinase: vùng nội bào có hoạt tính serine/threonine kinase.

(3) Cytokine receptor: không có vùng nội bào với hoạt tính enzyme nhưng khi hoạt hóa sẽ liên kết với các protein kinase nội bào để truyền tín hiệu.

Các thụ thể có hoạt tính kinase có kích thước khá lớn (polypeptide 1000 amino acid, so với 300-500 AA của GPCR) [1,33]. Cấu trúc tổng quát gồm:

- Vùng ngoại bào lớn với vị trí gắn kết ligand (ligand của nhóm này thường là protein).
- Một alpha helix xuyên qua màng tế bào.
- Vùng nội bào có hoạt tính kinase.

Sau khi thụ thể gắn với ligand và được hoạt hóa, chúng sẽ tạo dimer và kích hoạt kinase nội bào. Kinase nội bào sẽ gắn nhóm phosphate lên thụ thể (tự gắn - autophosphorylation hoặc gắn cho đối tác dimer hóa - crossphosphorylation). Phần thụ thể được gắn nhóm phosphate trở thành điểm neo để tương tác với các protein truyền tín hiệu, giúp điều khiển hoạt động của tế bào. Có 2 chuỗi truyền tín hiệu nội bào phổ biến: chuỗi Ras/Raf/MEK điều khiển quá trình tăng trưởng, biệt hóa của tế bào; chuỗi Jak/Stat điều khiển các phản ứng miễn dịch.

Các thuốc nhắm vào đích tác động nhóm này thường được sử dụng cho điều trị ung thư, đái tháo đường hoặc các bệnh liên quan đến miễn dịch như viêm khớp, các bệnh tự miễn [34].

Bảng 1.8. Các thụ thể có hoạt tính kinase là đích tác động của thuốc

Thụ thể	Ligand nội sinh	Thuốc tác động	Chỉ định/ghi chú
Nhóm 1 - receptor tyrosine kinase			
EGFR (HER1)	Epidermal growth factor (EGF)	Erlotinib, osimertinib cetuximab	Thuốc ức chế kinase Kháng thể đơn dòng ức chế vị trí gắn của ligand. Chỉ định trị ung thư
HER2/Neu	Chưa được phát hiện [35]	Transtuzumab	Kháng thể đơn dòng ức chế, trị ung thư
Toll-like receptor	Các polysaccharide của vi khuẩn		Nằm trong cơ chế phản ứng miễn dịch
Insuline receptor	Insuline	Các dẫn xuất insuline (detemir/glargine)	Kiểm soát đường huyết
Nhóm 2 - receptor serine/threonine kinase			
TGFβ receptor	Transforming growth factor (TGF)		Kiểm soát quá trình tăng trưởng, phân chia tế bào
Nhóm 3 - cytokine receptor			
G-CSFR	G-CSF (Granulocytes colony - stimulating factor)	Filgrastim (G-CSF tái tổ hợp)	Kích thích tủy xương tạo bạch cầu hạt (granulocyte)
IFNAR	Interferon alpha/beta	Peginterferon alfa-2b	Điều hòa miễn dịch
IL-1R	Interleukin 1	Anakinra	Đối vận/trị viêm khớp dạng thấp

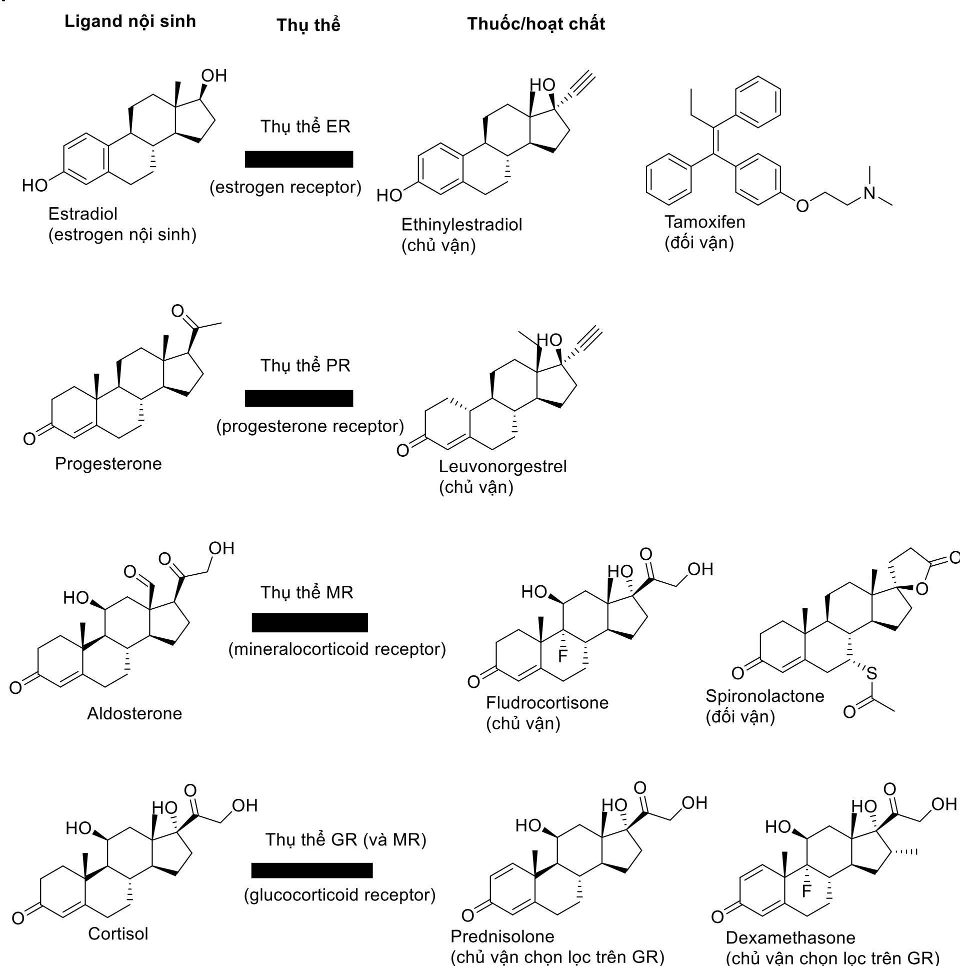
3.1.5. Thụ thể ở nhân tế bào (nuclear receptor)

Thụ thể ở nhân tế bào là các protein nằm ở tế bào chất (nhóm 1) hoặc trong nhân tế bào (nhóm 2). Khi được gắn kết với các ligand nội sinh (hormone, lipid), chúng sẽ kích hoạt và điều hòa quá trình dịch mã các gen để tế bào đáp ứng với kích thích từ bên ngoài. Các ligand của thụ thể ở nhân tế bào thường là các chất thân dầu có khả năng thấm và đi sâu vào trong tế bào như các estrogen, cortisol, hormone thyroid T3, các retinoids (vitamin A), calcitriol (vitamin D). Do điều hòa quá trình dịch mã các gen, đáp ứng sinh học từ việc kích hoạt thụ thể ở nhân tế bào thường chậm hơn so với việc tác động lên các kênh ion hoặc GPCR (quá trình dịch mã cần thời gian). Tuy nhiên sự thay đổi thường khá mạnh mẽ. Ví dụ như việc kích hoạt thụ thể GR (glucocorticoid receptor) có thể điều hòa trực tiếp hoặc gián tiếp quá trình dịch mã của 1% toàn bộ bộ gen [1]. Thuốc tác động lên thụ thể ở nhân tế bào thường gặp trong các trị liệu hormone (dẫn xuất estrogen và progesterone trong thuốc tránh thai, điều trị mãn kinh), thuốc trị ung thư (tamoxifen), kháng viêm (corticoid).

Cấu trúc thụ thể thường gồm vài thành phần cơ bản như 1) Domain có chức năng hoạt hóa 1 (Activation Function AF-1); 2) Domain gắn kết với DNA (DNA binding domain, DBD); 3) Domain có chức năng hoạt hóa 2 (Second Activation Function, AF-2). Túi gắn kết với ligand (ligand binding domain) là một phần của domain AF-2.

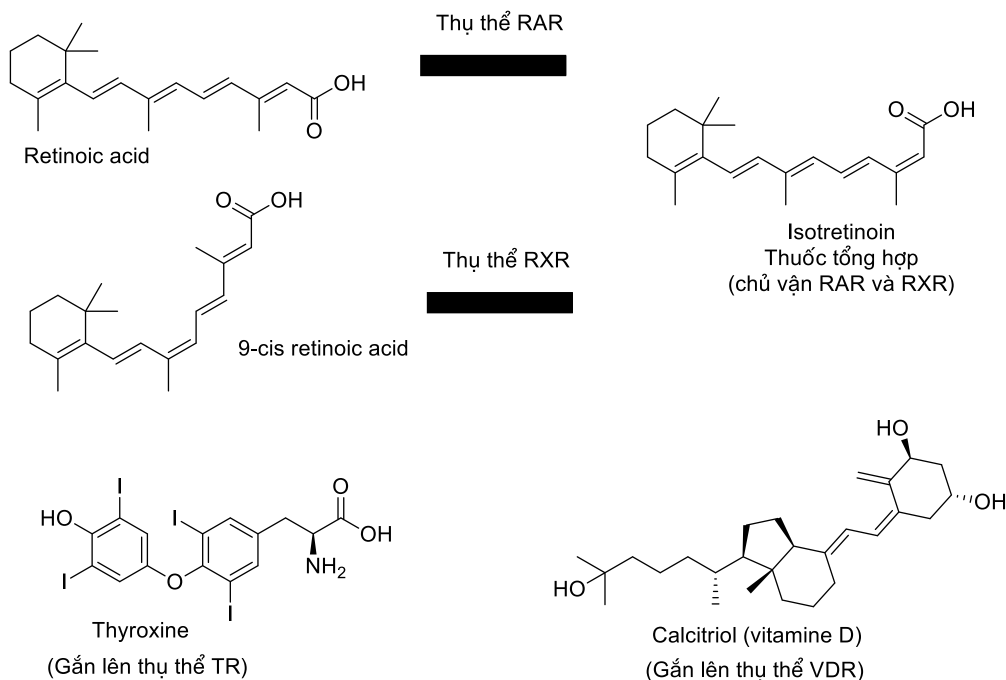
Quá trình kích hoạt và dẫn truyền tín hiệu của thụ thể ở nhân tế bào khá phức tạp và thường liên quan tới nhiều protein hỗ trợ khác. Dựa vào cơ chế chung, thụ thể ở nhân tế bào có thể được chia làm 4 nhóm [36]:

- Nhóm 1: tồn tại trong tế bào chất ở dạng bất hoạt và gắn với protein ổn định nhiệt (heat shock protein, HSP). Khi gắn kết với ligand, thụ thể được hoạt hóa sẽ gắn kết với nhau tạo thành homodimer và được vận chuyển vào trong nhân tế bào. Ái lực của thụ thể với ligand tự nhiên khá mạnh. Ligand của thụ thể nhóm 1 thường là các hormone như cortisol, estrogen, progresterone. Phần lớn các thuốc nhóm corticoid và chủ vận estrogen được phát triển từ việc thay đổi cấu trúc của ligand nội sinh.



Hình 1.20. Cấu trúc ligand nội sinh và một số thuốc tác động lên thụ thể ở nhân tế bào nhóm 1

- Nhóm 2: tồn tại trong nhân tế bào và hoạt động ở dạng heterodimer với thụ thể RXR (retinoid receptor), gắn sẵn với DNA. Ligand sẽ thấm vào trong nhân tế bào và kích hoạt thụ thể ở đó. Ái lực của thụ thể với ligand tự nhiên khá yếu. Ligand của thụ thể nhóm 2 thường là các lipid, hormone thyroid, retinoid, vitamin D.



Hình 1.21. Cấu trúc ligand nội sinh và các thuốc tác động lên thụ thể ở nhân tế bào nhóm 2

- Nhóm 3: hoạt động dưới dạng dimer nhưng ligand chưa được phát hiện.

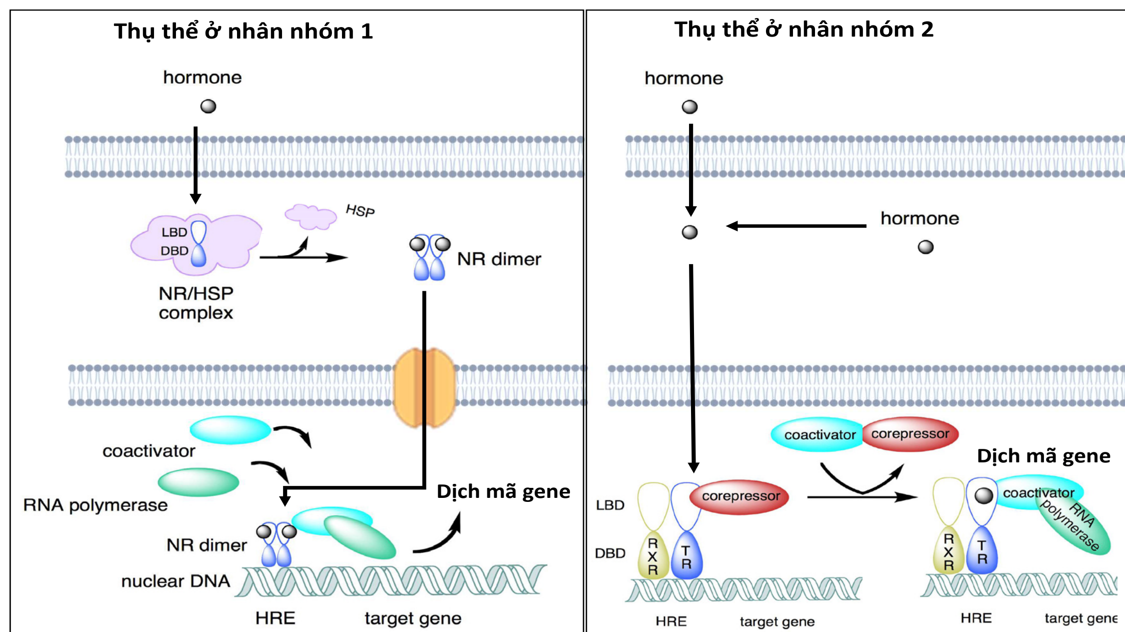
- Nhóm 4: hoạt động dưới dạng monomer.

Nhóm 1 và nhóm 2 là các đích tác động quan trọng của các thuốc hiện có trên thị trường.

Bảng 1.8. Ví dụ các thụ thể ở nhân tế bào là đích tác động của thuốc

Thụ thể	Ligand nội sinh	Thuốc tác động	Chỉ định/ghi chú
Nhóm 1			
ER	Các estrogen	Ethinylestradiol, tamoxifen	Chủ vận/Thuốc tránh thai Đối vận – điều hòa/Trị ung thư phụ thuộc hormone
PR	Progesterone	Levonorgestrel	Chủ vận/Thuốc tránh thai

Thụ thể	Ligand nội sinh	Thuốc tác động	Chỉ định/ghi chú
MR	Aldosterone Cortisol	Fludrocortisone Spironolactone	Chủ vận/Trị suy thượng thận Đối vận/Trị phù do suy tim, phù do suy thận
GR	Cortisol	Prednisolone Dexamethasone	Chủ vận/Kháng viêm
AR	Các androgen (testosterone)	Stanazolol Flucamide	Chủ vận/Hỗ trợ tăng sinh cơ Đối vận/Trị ung thư tuyến tiền liệt
Nhóm 2			
RAR	Retinoic acid	Isotretinoin	Điều trị mụn trứng cá
TR	Hormone thyroid	Thyroxine	Điều trị suy giáp
PPAR	Các acid béo	Rosiglitazone, pioglitazone	Điều trị đái tháo đường (đã rút khỏi thị trường)
VDR	Vitamine D	Calcitriol	Điều trị loãng xương
LXR	Cholesterol		Thụ thể là sensor cảm nhận cholesterol ở gan
SXR	Các chất ngoại lai		



Hình 1.22. So sánh thụ thể ở nhân nhóm 1 và nhóm 2. NR = nuclear receptor (thụ thể ở nhân). HSP = heat shock protein. HRE = hormone response element (đoạn gene gắn chuyên biệt với NR, là promotor cho quá trình dịch mã). RXR = retinoid receptor. TR = thyroid hormone receptor. Minh họa được xây dựng với các hình ảnh từ nguồn Creative Common.

3.2. Enzyme là đích tác động của thuốc

Nếu thụ thể (receptor) đảm nhận quá trình truyền nhận tín hiệu thì enzyme đảm nhận việc thực hiện các biến đổi trong tế bào và xúc tác các phản ứng hóa học:

- Enzyme thực hiện việc sinh tổng hợp các amino acid, protein, lipid, DNA.

- Enzyme đảm nhận quá trình phân hủy các chất thành phần tế bào, protein lỗi, sửa chữa DNA, loại bỏ các chất ngoại lai.

- Biến đổi cấu trúc protein, lipid, DNA để kích hoạt/bất hoạt chúng hay giúp chúng đảm nhận các vai trò chuyên biệt.

Enzyme xúc tác phản ứng hóa học bằng cách giảm rào cản năng lượng của trạng thái chuyển tiếp và cho phép phản ứng xảy ra nhanh chóng. Các phản ứng có thể từ đơn giản như chuyển hóa qua lại giữa CO_2 và bicarbonate (carbonate anhydrase), thủy phân liên kết amide (protease) đến các phản ứng cực kỳ phức tạp như sinh tổng hợp cholesterol. Bộ phận của enzyme tham gia vào phản ứng hóa học gọi là túi xúc tác (catalytic site).

3.2.1. Enzyme là đích tác động của thuốc

Enzyme là đích tác động tiềm năng của thuốc vì chúng liên quan đến nhiều quá trình sinh học quan trọng. Mặt khác việc phát triển thuốc nhắm vào enzyme đơn giản hơn so với việc phát triển thuốc nhắm vào thụ thể do một số nguyên nhân sau [27]:

- Vị trí xúc tác của enzyme thường có túi gắn kết rõ ràng cho phép thiết kế phân thử thuốc với ái lực cao.

- Việc phát triển thuốc nhắm vào enzyme có thể dựa vào cấu trúc của cơ chất hoặc trạng thái chuyển tiếp của cơ chất trong túi xúc tác.

- Enzyme thường tương đối bền và dễ được phân lập (không phải là protein màng tế bào hoặc domain xúc tác có thể dễ dàng được phân lập mà không mất hoạt tính). Điều này cho phép dễ dàng phát triển các phép thử sinh học và đánh giá hoạt tính của chất *in vitro*.

- Do việc phân lập dễ dàng, cấu trúc enzyme có thể được nghiên cứu bằng các kỹ thuật vật lý như NMR, tinh thể học tia X (X-ray crystallography). Có được cấu trúc thực nghiệm của enzyme cho phép việc sử dụng các kỹ thuật phát triển thuốc dựa vào cấu trúc (structure-based drug design), sàng lọc ảo (virtual screening), phát triển thuốc dựa từ các phân mảnh có hoạt tính (fragment-based drug design).

3.2.2. Hoạt tính của enzyme

Để đánh giá hoạt tính của enzyme, người ta thường dùng phương trình Michaelis-Menten với các hằng số như sau:

$$v = \frac{Vmax * [S]}{Km + [S]}$$

Với v là vận tốc phản ứng, V_{max} là vận tốc phản ứng tối đa, [S] là nồng độ cơ chất. Ngoài ra còn có:

- K_m: hằng số Michaelis, là nồng độ cơ chất để enzyme đạt được một nửa hoạt tính tối đa (V_{max}/2). K_m cũng có thể dùng để đánh giá ái lực của enzyme với cơ chất.

- K_{cat}: số lượng cơ chất được chuyển hóa bởi enzyme trong 1 đơn vị thời gian. Khi enzyme xúc tác phản ứng của nhiều cơ chất khác nhau, chỉ số K_{cat}/K_m chỉ sự đặc hiệu của enzyme trong việc xúc tác phản ứng.

K_{cat}/K_m càng lớn thì cơ chất càng được enzyme chuyển hóa nhanh.

3.2.3. Đánh giá khả năng ức chế enzyme

Đa phần các thuốc tác động lên enzyme là chất ức chế enzyme, chỉ có một số nhỏ là chất hoạt hóa enzyme. Để đánh giá khả năng ức chế enzyme, người ta thường dùng các thông số như:

- K_i: ái lực của chất với enzyme.

- IC_{50}: nồng độ ức chế 50% hoạt tính của enzyme.

K_i và IC_{50} càng nhỏ thì khả năng ức chế enzyme càng mạnh.

Các chất ức chế enzyme (inhibitor) được chia thành 2 loại dựa vào cách gắn kết với enzyme:

- Chất ức chế enzyme thuận nghịch: thường tạo các tương tác không cộng hóa trị với enzyme (đa số các trường hợp, ví dụ như nhóm NSAID, nhóm ACEI). Một vài chất ức chế enzyme thuận nghịch có thể tạo liên kết cộng hóa trị với enzyme, nhưng phản ứng này có thể đảo nghịch được (ví dụ như bortezomib, telaprevir, boceprevir, saxagliptin) [37]. Enzyme có thể khôi phục hoạt tính khi chất tách rời khỏi enzyme.

- Chất ức chế enzyme không thuận nghịch: tạo liên kết cộng hóa trị không thuận nghịch với enzyme và không thể tách rời (ví dụ như osimertinib, aspirin, finasteride). Enzyme bị ức chế hoàn toàn và cơ thể phải tổng hợp enzyme mới thay thế.

Dựa vào vị trí gắn kết và trạng thái gắn kết, chất ức chế enzyme có thể được chia thành:

- Chất ức chế cạnh tranh (competitive inhibitor): gắn cùng vị trí với cơ chất của enzyme.

- Chất ức chế không cạnh tranh (non-competitive inhibitor): gắn khác vị trí gắn với cơ chất, còn được gọi là allosteric inhibitor.

- Chất ức chế chống cạnh tranh (uncompetitive inhibitor hoặc anticompetitive inhibitor): chỉ gắn vào phức hợp enzyme - cơ chất và ức chế phản ứng enzyme.

3.2.4. Các nhóm enzyme quan trọng là đích tác động của thuốc

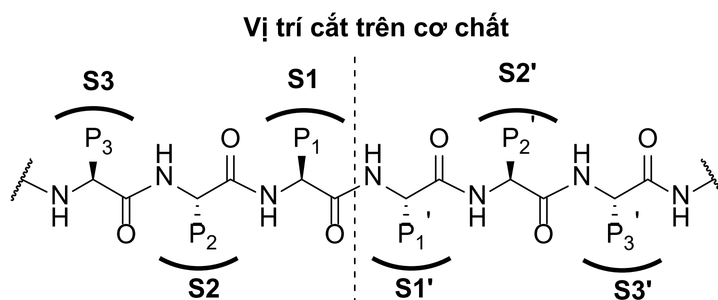
Protease

Protease xúc tác phản ứng thủy phân protein và peptide. Enzyme có thể chia thành nhiều loại dựa vào bản chất của các amino acid trong vị trí xúc tác. Có thể kể đến ***serine protease*** (xem ví dụ phần cấu trúc protein), ***cysteine protease*****,** ***aspartyl protease*****.** Một số enzyme sử dụng kim loại như Zn^{2+} trong vị trí xúc tác được gọi là ***metalloprotease*** (MMP). Tên gọi các vị trí gắn kết trong túi xúc tác được quy định rất rõ ràng.

- Liên kết amide bị cắt được lấy làm điểm quy chiếu.

- Các amino acid về hướng N-terminus được đánh số là P1, P2, P3,… về hướng C-terminus được đánh số là P1’, P2’, P3’,…

- Các túi gắn kết tương ứng với các amino acid này sẽ là S1, S2, S3,… và S1’, S2’, S3’.



Hình 1.23. Danh pháp vị trí cắt của enzyme trên cơ chất peptide

Việc nắm danh pháp này cho phép tiếp cận thuận lợi các nghiên cứu về chất ức chế protease. Các chất ức chế (inhibitor) tạo liên kết cộng hóa trị thường được phát triển dựa vào phần P1-P2-P3 của cơ chất. Ứng dụng của các chất ức chế protease rất rộng do chúng liên quan đến nhiều quá trình quan trọng của cơ thể sống. Trong lâm sàng có các thuốc trị cao huyết áp như các chất ức chế men chuyển ACEI (captopril, lysinopril), thuốc ức chế neprilysin (sacubitril), các thuốc trị virus HIV (lopinavir), viêm gan C HCV (simeprevir, telaprevir), thuốc trị ung thư (bortezomib). Được biết đến nhiều nhất có lẽ là kháng sinh nhóm penicilin và cephalosporin, là chất ức chế PBP, một serine protease của vi khuẩn. Gần đây có biệt dược paxlovid (hoạt chất là nirmatrelvir và ritonavir) dùng điều trị COVID-19 cũng là chất ức chế protease (3CL protease, thuộc nhóm cysteine protease).

Bảng 1.9. Ví dụ các enzyme là đích tác động của thuốc

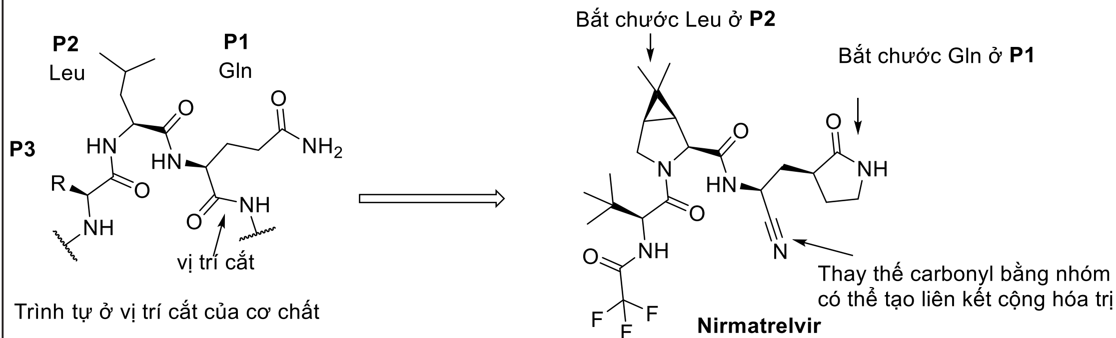
Enzyme	Phân loại	Cơ chất	Thuốc tác động	Chỉ định/ghi chú
ACE	MMP	Angiotensin I	Captopril, lisinopril	Cao huyết áp
Neprilysin	MMP	Enkephalin, endothelin, substance P	Sacubitril	Suy tim
NS3/4A	Serine protease	HCV polyprotein	Lopinavir	Trị viêm gan C
PBP vi khuẩn	Serine protease	Peptidoglycan*	Penicillin, cefalosporine	Kháng khuẩn
3CL protease của SARS-CoV-2	Cystein protease	SARS-CoV-2 polyprotein	Nirmatrelvir (paxlovid)	Điều trị Covid-19

* PBP xúc tác nhiều phản ứng, trong đó có peptidoglycan endopeptidase và transpeptidase [38].

Ví dụ protease inhibitor phát triển từ cơ chất

3CL protease (3-Chymotrypsin Liked protease) hay Main protease (M^{pro}) là một cysteine protease có nhiệm vụ cắt polypeptide ban đầu của coronavirus thành 11 đoạn nhỏ. Các đoạn nhỏ này sẽ gập cuộn thành các protein có chức năng, giúp virus sao chép [39,40]. 3CL protease thường cắt polypeptide sau glutamine (Gln) với trình tự như sau Leu-Gln | Ser-Ala-Gly.

Nirmatrelvir (Paxlovid) được phát triển dựa vào cấu trúc vị trí P3-P2-P1 của cơ chất.



Hình 1.24. Phát triển nirmatrelvir dựa vào cấu trúc cơ chất của 3CL protease

Các amino acid dạng vòng được dùng để thay thế Leu ở P2 hay Gln ở P1 giúp tăng tính bền của thuốc và tăng hoạt tính trên 3CL protease. Mặt khác, chúng còn giúp giảm số lượng nhóm cho liên kết hydro (H-bond donor), giúp hoạt chất tăng khả năng thấm qua màng tế bào và sử dụng được bằng đường uống.

Kinase

Kinase xúc tác phản ứng gắn nhóm phosphate lên protein và peptide. Tất cả các kinase đều cùng dùng ATP làm cơ chất và nhiều chất ức chế có cơ chế cạnh tranh với ATP. Do đó điểm quan trọng trong việc phát triển thuốc ức chế kinase là đạt được sự chọn lọc trên một loại (hoặc một nhóm enzyme) nhất định. Các chất ức chế kinase thường gặp trong các thuốc trị ung thư, thuốc kháng các bệnh viêm liên quan đến rối loạn hệ miễn dịch như viêm khớp dạng thấp (tofacitinib).

DNA polymerase

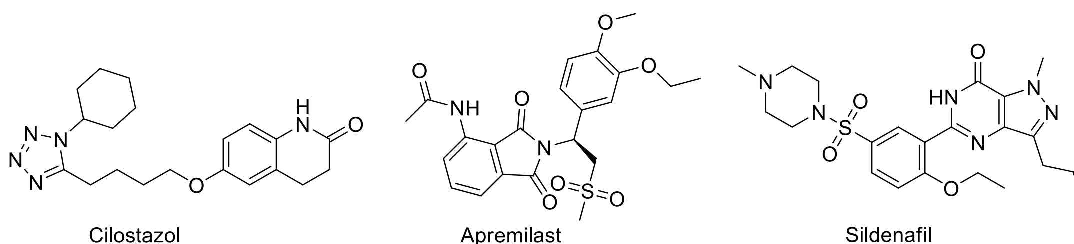
Enzyme này xúc tác phản ứng tổng hợp DNA. Các chất ức chế polymerase được sử dụng trong điều trị kháng virus HIV như các chất ức chế reverse transcriptase của virus (AZT, abacavir). Một số còn được sử dụng trong điều trị ung thư như gemcitabine, cytarabine có khả năng ức chế DNA polymerase của người. Cấu trúc của chúng thường là dẫn xuất của nucleotide hoặc nucleoside (xem phần 4.2).

Phosphodiesterase (PDE)

Enzyme có chức năng thủy phân liên kết phosphodiester trên DNA, RNA hoặc các nucleotide. Các enzyme quan trọng trong trị liệu là các phosphodiesterase thủy phân nucleotide mạch vòng như cAMP, cGMP do các nucleotide này đóng vai trò quan trọng trong nhiều chuỗi truyền tín hiệu trong tế bào. Có 11 nhóm PDE, chức năng phụ thuộc từng loại mô. Trong đó chất ức chế PDE5 (sildenafil, tadalafil) dùng điều trị rối loạn cương dương và tăng huyết áp động mạch phổi (pulmonary arterial hypertension).

Bảng 1.10. Ví dụ các PDE là đích tác động của thuốc

Enzyme	Cơ chất	Thuốc tác động	Chỉ định/ghi chú
PDE3	cAMP, cGMP	Cilostazol	Ức chế PDE3, trị suy tim
PDE4	cAMP	Apremilast (Otezla), roflumilast	Ức chế PDE4, trị vảy nến Ức chế PDE4, trị COPD
PDE5	cGMP	Sildenafil, tadalafil	Ức chế PDE5, trị rối loạn cương dương và tăng huyết áp động mạch phổi



Hình 1.25. Cấu trúc một số chất ức chế phosphodiesterase

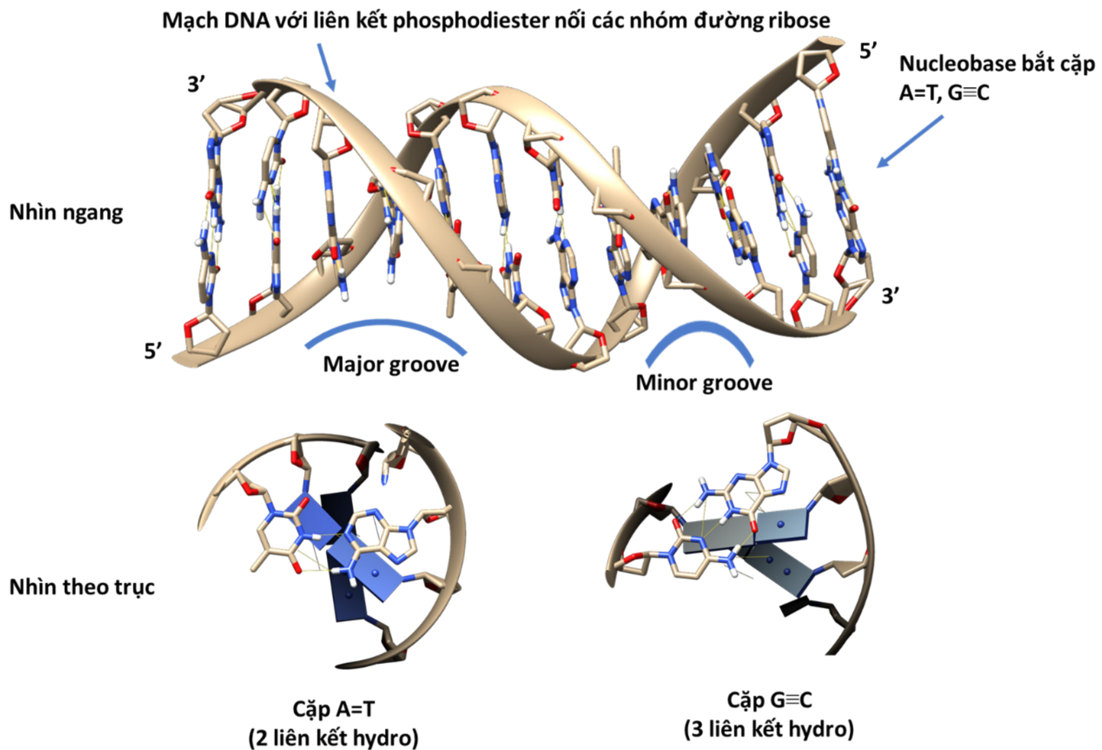
Oxidoreductase/cyclooxygenase

Enzyme xúc tác các phản ứng oxy hóa (thêm nhóm hydroxy, thêm nhóm carboxyl, loại hydro) hoặc phản ứng khử (thêm hydro, loại oxy) của cơ chất. Các chất ức chế nhóm enzyme này có thể kể đến chất ức chế HMG-coA synthetase như nhóm statin (atorvastatin, lovastatin), có tác dụng ức chế sinh tổng hợp cholesterol. Chất ức chế cyclooxygenase (COX inhibitors) như các NSAID (ibuprofen, naproxen) ức chế tổng hợp các prostagladine gây viêm nên có tác dụng kháng viêm, giảm đau.

4. DNA VÀ RNA LÀ ĐÍCH TÁC ĐỘNG CỦA THUỐC

Chỉ khoảng 1% các thuốc có đích tác động là DNA hoặc RNA và phần lớn thuộc nhóm thuốc điều trị ung thư. Do DNA là thành phần tối quan trọng, lưu giữ mã di truyền do đó việc can thiệp không chọn lọc lên cấu trúc DNA thường gây chết tế bào. Quy trình dịch mã cổ điển bao gồm phiên mã từ DNA sang RNA và dịch mã từ RNA sang protein chức năng. RNA có vòng đời ngắn và chỉ đóng vai trò cầu nối cho việc phiên dịch thông tin di truyền, do đó gần đây chúng trở thành đích tác động tiềm năng. Tác động lên RNA có ít nguy cơ tác dụng phụ so với việc tác động lên DNA.

DNA là chuỗi xoắn kép gồm 2 mạch polynucleotide có chiều ngược nhau. Mỗi mạch được cấu tạo từ các nucleotide gồm 2’-deoxyadenosine monophosphate (A), 2’-deoxyguanosine monophosphate (G), thymidine monophosphate (T) và 2’-deoxycytidine monophosphate (C). Các nucleotide cùng một mạch được nối với nhau bằng cầu nối phosphodiester và hai mạch của chuỗi xoắn kép liên kết với nhau bởi các liên kết hydro giữa các cặp nucleobase tương xứng A=T, G≡C.



Hình 1.26. Cấu trúc 3D của DNA và các cặp nucleotide A=T, G≡C. PDB: 1BNA

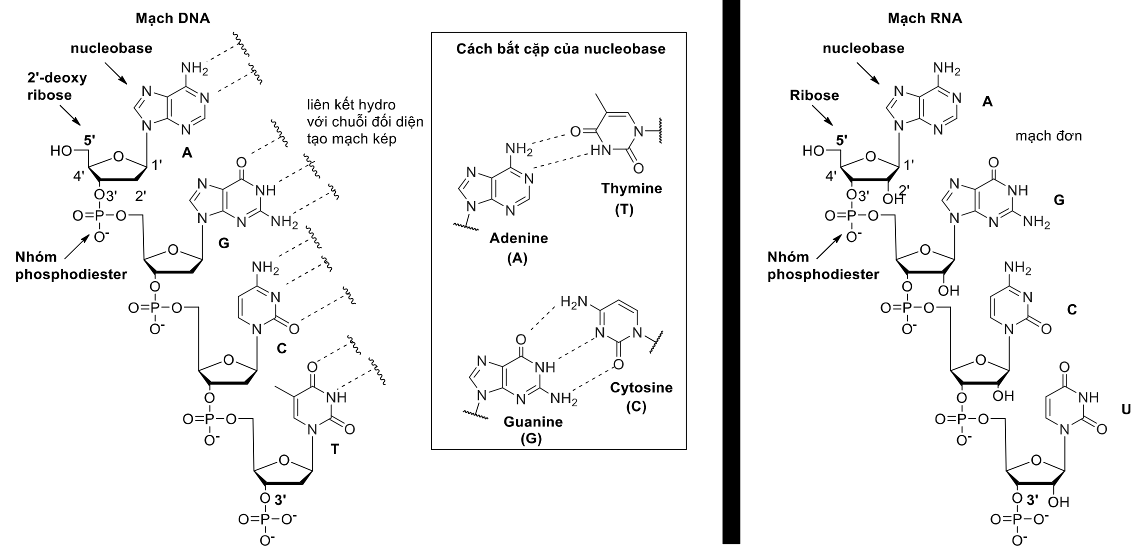
Để tạo nên chuỗi DNA và bắt cặp giữa 2 mạch, cấu trúc mỗi nucleotide gồm 2 phần là nucleoside và nhóm phosphate:

- Nucleoside: bao gồm nucleobase và phần đường.

+ Nucleobase: tạo liên kết hydro để bắt cặp với nucleotide mạch đối diện. Khả năng bắt cặp cho phép lưu giữ và sao chép thông tin di truyền. Các nucleobase sau khi bắt cặp sẽ định hướng song song với nhau và xếp chồng lên các nucleobase trước đó bằng tương tác π-π. Có 2 nhóm nucleobase, nhóm chứa nhân purine (adenine, guanine) và nhóm chứa nhân pyrimidine (cytosine và thymine).

+ Phần đường 2’-deoxyribose tạo ra mạch DNA. Phần đường kết hợp với nucleobase tạo thành nucleoside.

- Nhóm phosphate: tạo cầu nối phosphodiester giữa vị trí 5’ của đường 2’-deoxyribose trên nucleotide này với vị trí 3’ của đường 2’-deoxyribose trên nucleotide tiếp theo.



Hình 1.27. Cấu trúc DNA, RNA và khả năng bắt cặp của các nucleobase

Bảng 1.11. Thành phần của các nucleoside

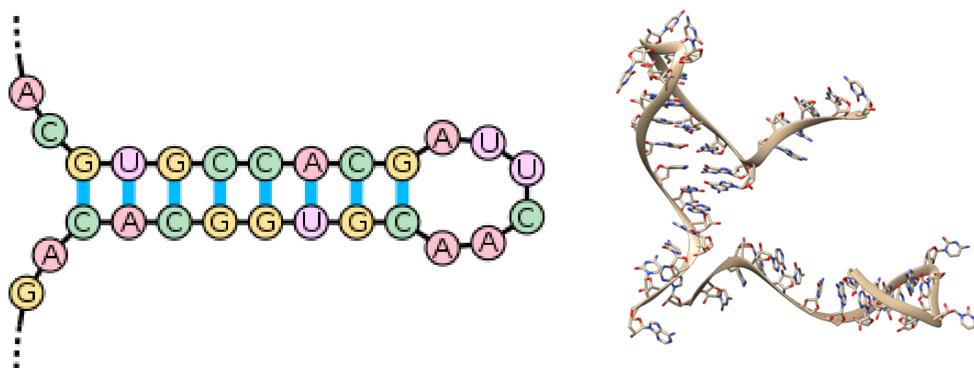
Polynucleotide	Nucleoside	Phần đường	Phần nucleobase
DNA	Deoxyadenosine	2’-Deoxyribose	Adenine (A)
	Deoxyguanosine	2’-Deoxyribose	Guanine (G)
	Deoxycytidine	2’-Deoxyribose	Cytosine (C)
	Thymidine	2’-Deoxyribose	Thymine (T)
RNA	Adenosine	Ribose	Adenine (A)
	Guanosine	Ribose	Guanine (G)
	Cytidine	Ribose	Cytosine (C)
	Uridine	Ribose	Uracil (U)
Nucleotide = nucleoside + nhóm phosphate			

RNA cũng có thành phần tương tự như DNA nhưng có các đặc điểm khác biệt sau đây:

- RNA là mạch đơn. Tuy là mạch đơn nhưng RNA cũng có thể gập cuộn và tự bắt cặp kết hợp thành các cấu trúc dạng vòng (loop), mạch kép. Tương tự protein, cấu trúc 3D của RNA cũng cho phép chúng đảm nhiệm nhiều chức năng khác nhau (Hình 1.28).

- Thymidine được thay bằng uridine. Như vậy 4 nucleoside cấu tạo nên RNA là adenosine, guanosine, cytosine và uridine.

- Phần đường trong RNA là ribose (chứ không phải 2’-deoxyribose như DNA) có nhóm hydroxy ở vị trí 2’.



Hình 1.28. Cấu trúc 2D và 3D của RNA. Hình bên trái - cấu trúc kẹp tóc (hairpin) và vòng (loop) tạo ra từ RNA (nguồn Wikimedia Common). Hình bên phải - cấu trúc 3D của phần stem-loop của RNA thông tin (mRNA), PDB : 4L8R.

4.1. Thuốc tác động lên DNA và RNA

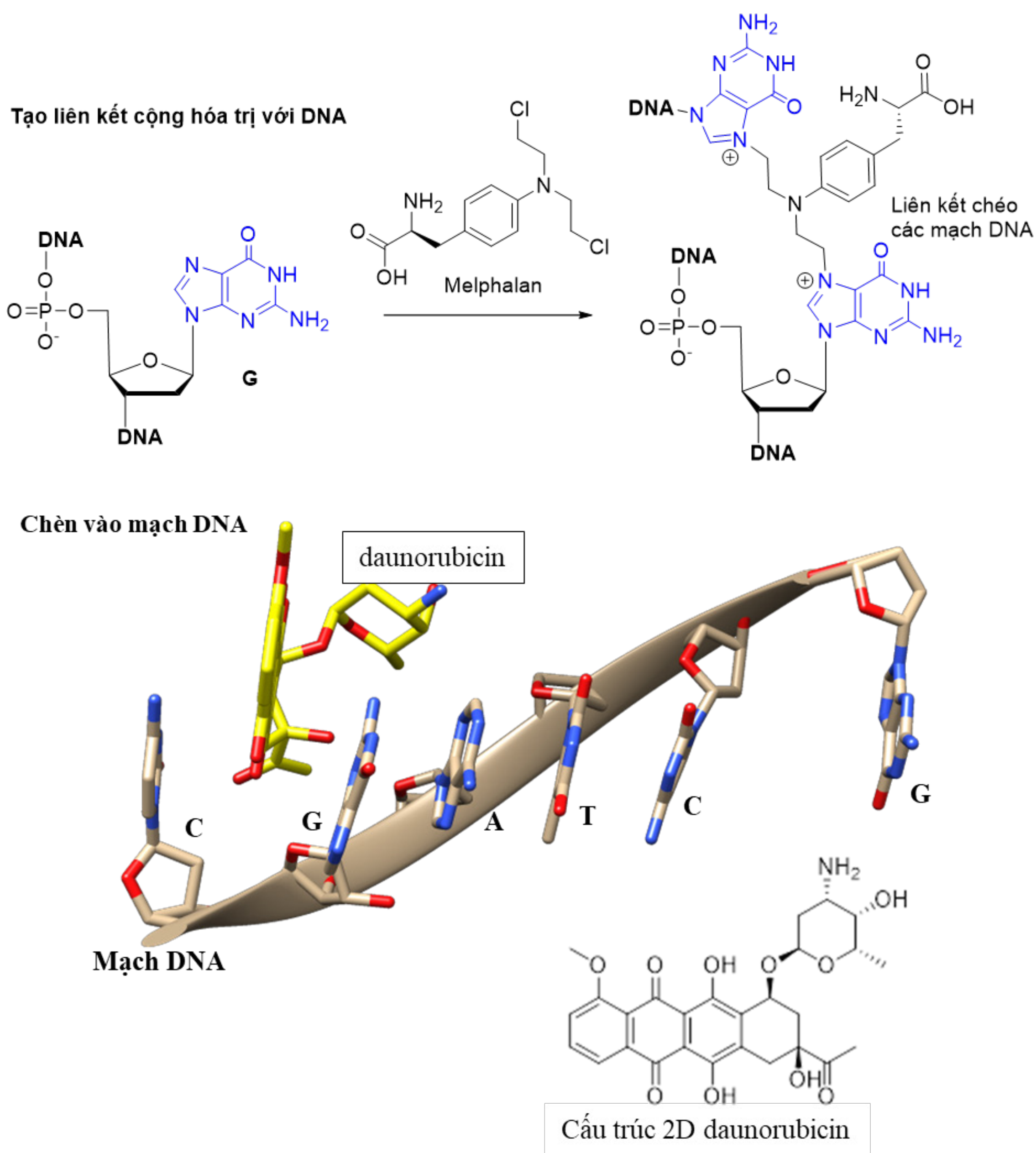
Có nhiều cách để thuốc tác động lên cấu trúc của DNA.

- Tạo liên kết cộng hóa trị với các nucleobase: các nucleobase nhân purine khá giàu điện tử nên dễ bị alkyl hóa hoặc tấn công bởi các tác nhân ái điện tử. Các thuốc hoạt động theo cơ chế này là nhóm nitrogen mustard, nitrosourea, nhóm platin trị ung thư.

- Chèn vào mạch DNA và cắt mạch DNA: do các nucleobase tạo ra các cấu trúc đồng phẳng xếp chồng lên nhau, các chất đa vòng thơm có cấu trúc phẳng có thể chèn vào giữa các nucleobase. Điển hình là thuốc trị ung thư nhóm anthracycline, bleomycine, nhóm camptothecin, các podophyllotoxine.

Bảng 1.12. Các thuốc tác động lên DNA và RNA

Đích	Thuốc	Cơ chế	Chỉ định/ghi chú
DNA	Cyclophosphamide	Alkyl hóa	Ung thư máu
DNA	Cisplatin	Tạo liên kết cộng hóa trị	Ung thư tinh hoàn, ung thư phổi
DNA	Irinotecan	Chèn mạch DNA, ức chế topoisomerase I	Ung thư
DNA	Etoposide	Chèn mạch DNA, ức chế topoisomerase II	Ung thư
RNA	Mipomersen	Antisense	Tăng cholesterol do di truyền

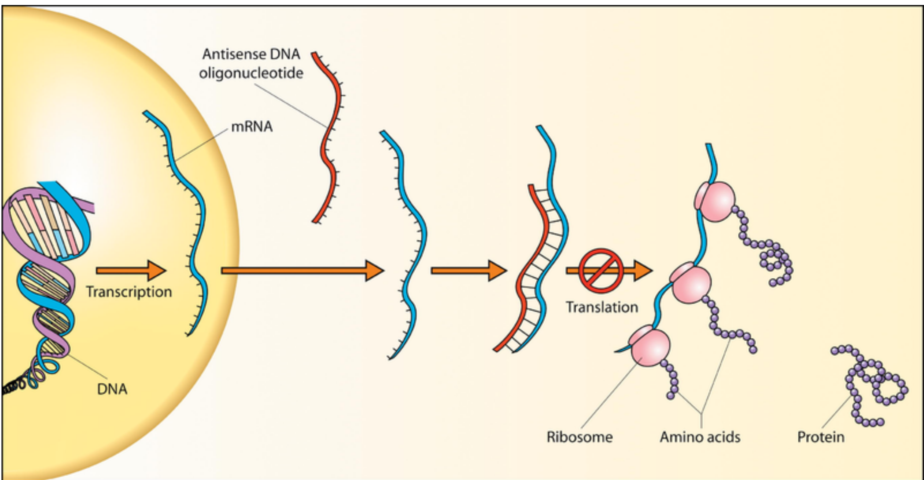


Hình 1.29. Các cơ chế tác động của thuốc lên DNA. PDB: 1JO2

RNA thường là trung gian để chuyển thông tin di truyền từ DNA thành protein. Chúng có độ bền thấp hơn là DNA. Các thuốc can thiệp vào cấu trúc RNA thường có 2 cơ chế sau đây:

- Gắn kết với RNA và ngăn cản sự dịch mã thành protein (antisense).

- Gắn kết với RNA và dẫn đến sự phân hủy RNA bởi các phức hợp enzyme RNase (các siRNA và miRNA).



Hình 1.30. Cơ chế hoạt động của antisense là bắt cặp với mRNA để ngăn sự dịch mã từ mRNA ra protein
(*Nguồn Creative Common*)

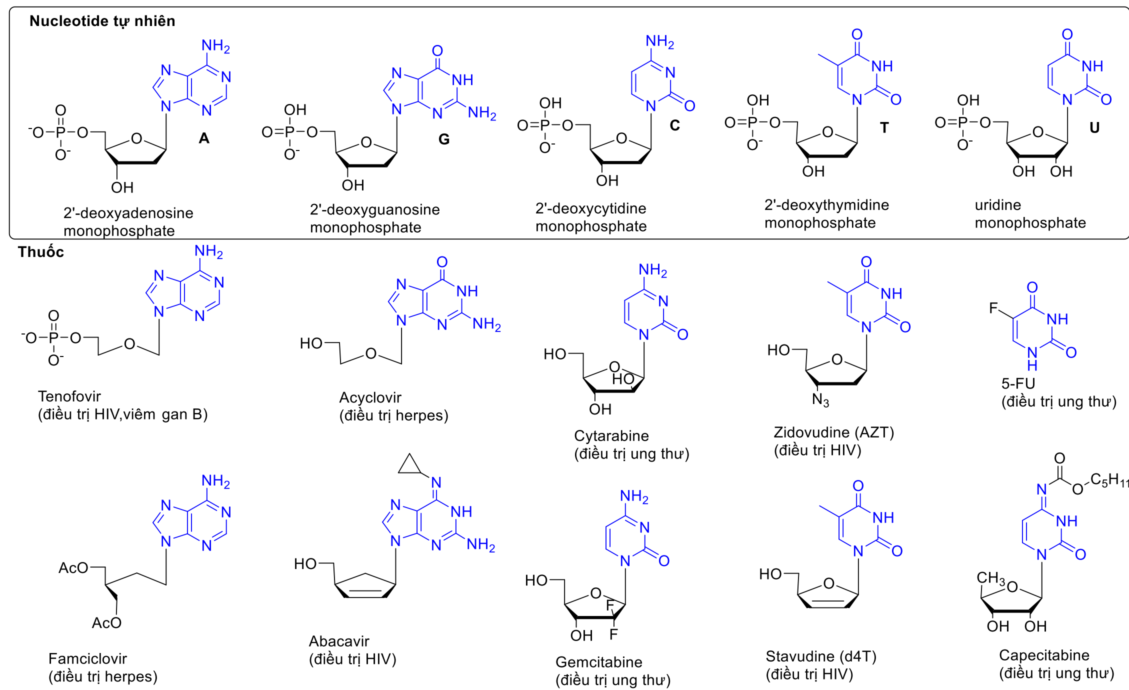
Thuốc hoạt động theo hai cơ chế trên thường cũng có bản chất là polynucleotide nhưng cấu trúc được thay đổi để tăng độ bền chống lại enzyme nuclease (enzyme cắt chuỗi nucleotide).

4.2. Thuốc có bản chất nucleotide hoặc là dẫn xuất nucleoside

Do DNA và RNA tương tác với rất nhiều thành phần quan trọng khác trong tế bào, việc bắt chước cấu trúc của DNA, RNA hoặc nucleotide có thể ức chế nhiều protein hoặc enzyme trong tế bào. Có thể kể đến các enzyme tương tác với DNA là DNA polymerase hoặc enzyme sinh tổng hợp nucleotide như thymidylate synthase.

Bảng 1.13. Các thuốc là dẫn xuất của nucleotide và nucleoside

Thuốc	Đích tác động	Cơ chế	Chỉ định/ghi chú
Cytarabine Gemcitabine	DNA polymerase	Ức chế sinh tổng hợp DNA	Ung thư máu AML
5-FU capecitabine	Thymidylate synthase	Ức chế tổng hợp thymidine	Ung thư
Zidovudine (AZT) Tenofovir	Reverse transcriptase	Ức chế tổng hợp DNA từ RNA cho retrovirus	Điều trị HIV Điều trị HIV và viêm gan B
Acyclovir Famciclovir	DNA polymerase herpes virus	Ức chế tổng hợp DNA virus	Điều trị herpes, zona
Allopurinol	Xanthine oxidase	Ức chế chuyển hóa purine	Điều trị gout



Hình 1.31. Các thuốc là dẫn xuất của nucleotide hoặc nucleoside

4.3. Trị liệu dùng gene (DNA) hoặc RNA

Các phương pháp trị liệu sử dụng liệu pháp gene (gene therapy) và RNA cũng đang là những hướng đi mới trong điều trị các bệnh di truyền hoặc bệnh truyền nhiễm. Liệu pháp gene thay thế gene hoạt động hoặc hoạt động không ổn định bằng gene mới. Phương pháp trị liệu dùng RNA ngoài cơ chế antisense nêu ở trên (phần 4.1) thì còn có thể dùng để giúp cơ thể tạo ra các protein chuyên biệt (dịch mã từ RNA) chống lại bệnh tật.

Bảng 1.14. Các thuốc có cấu trúc là DNA và RNA

Thuốc	Bản chất	Cơ chế	Chỉ định/ghi chú
BNT162b2	mRNA vaccine	Giúp sinh tổng hợp spike protein của SARS-CoV-2	Ngừa COVID-19
Pegaptanib	RNA aptamer	Gắn và ức chế VEGF, ngăn hiện tượng tạo mạch và ngăn tăng tính thấm mạch máu	Thoái hóa điểm vàng
T-VEC	Virus vector với gene GM-CSF	Virus tiêu diệt tế bào ung thư đồng thời làm tế bào ung thư tổng hợp và giải phóng GM-CSF. GM-CSF kích hoạt hệ miễn dịch chống lại ung thư	Ung thư sắc tố da di căn giai đoạn sớm (tỷ lệ chữa khỏi trên 15%)

Thuốc	Bản chất	Cơ chế	Chỉ định/ghi chú
Onasemnogene abeparvovec (Zolgensma)	Gene thay thế	Thay thế gene SMN1 giúp các neuron có thể tồn tại	Điều trị liệt cơ thể tủy sống (spinal muscular dystrophy)
Brexucabtagene autoleucel (Tecartus)	Tế bào CAR-T	T cell của bệnh nhân được biến đổi gene để nhắm vào các tế bào ung thư	Ung thư máu dòng lympho

5. KẾT LUẬN

Đích tác động của thuốc rất phong phú và đa dạng. Phần lớn có bản chất là protein như thụ thể và enzyme. Thụ thể nhóm GPCR, thụ thể ở nhân và kênh ion kích hoạt bởi điện thế màng tế bào (VGIC) là các nhóm đích tác động được khai thác nhiều nhất. Tuy nhiên kinase và protease dần trở thành các đích tác động phổ biến khi mà các chất ức chế những đích tác động này ngày càng được khác thác nhiều trong điều trị ung thư, các bệnh tim mạch, kháng virus. Mỗi nhóm đích tác động có ưu nhược điểm khác nhau và cần nắm rõ bản chất của chúng để phát triển các thuốc mới. Ngoài ra, liệu pháp gene và trị liệu dùng RNA đang mở ra các hướng đi mới giúp giải quyết các bệnh lý phức tạp khó có thể điều trị bằng các thuốc phân tử nhỏ truyền thống. Các đích tác động không truyền thống như các tương tác protein-protein cũng đang dần được khai thác.

Tài liệu tham khảo

1. Rang HP, Dale MM. Rang and Dale's pharmacology. Edinburgh; New York: Elsevier/Churchill Livingstone; 2012.
2. Brunton LL, Knollmann BC, Hilal-Dandan R. Goodman & Gilman's : The Pharmacological Basis of Therapeutics. New York, N.Y.: McGraw-Hill Education LLC.; 2018.
3. Wilhelm S, Carter C, Lynch M, Lowinger T, Dumas J, Smith RA, et al. Discovery and development of sorafenib: a multikinase inhibitor for treating cancer. Nat Rev Drug Discov 2006;5:835–844..
4. Santos R, Ursu O, Gaulton A, Bento AP, Donadi RS, Bologa CG, et al. A comprehensive map of molecular drug targets. Nat Rev Drug Discov 2017;16:19–34.
5. Ban TA. The role of serendipity in drug discovery. Dialogues Clin Neurosci 2006;8:335–344.
6. Won E, Kim Y-K. An Oldie but Goodie: Lithium in the Treatment of Bipolar Disorder through Neuroprotective and Neurotrophic Mechanisms. Int J Mol Sci 2017;18:2679.

7. Swinney DC, Anthony J. How were new medicines discovered? Nat Rev Drug Discov 2011;10:507–519.
8. Safavi-Hemami H, Brogan SE, Olivera BM. Pain therapeutics from cone snail venoms: From Ziconotide to novel non-opioid pathways. J Proteomics 2019;190:12–20.
9. Mall S, Malcolm East J, Lee AG. Transmembrane α helices. Curr. Top. Membr., vol. 52, Elsevier; 2002, p. 339–70.
10. Koch O, Klebe G. Turns revisited: A uniform and comprehensive classification of normal, open, and reverse turn families minimizing unassigned random chain portions. Proteins Struct Funct Bioinforma 2009;74:353–367.
11. Tyndall JDA, Pfeiffer B, Abbenante G, Fairlie DP. Over One Hundred Peptide-Activated G Protein-Coupled Receptors Recognize Ligands with Turn Structure. Chem Rev 2005;105:793–826.
12. Lim K-H, Staudt LM. Toll-Like Receptor Signaling. Cold Spring Harb Perspect Biol 2013;5:a011247.
13. Caterina MJ, Schumacher MA, Tominaga M, Rosen TA, Levine JD, Julius D. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. Nature 1997;389:816–824.
14. Ranade SS, Woo S-H, Dubin AE, Moshourab RA, Wetzel C, Petrus M, et al. Piezo2 is the major transducer of mechanical forces for touch sensation in mice. Nature 2014;516:121–125.
15. Mahesh S, Tang K-C, Raj M. Amide Bond Activation of Biological Molecules. Molecules 2018;23:2615.
16. Hofer F, Kraml J, Kahler U, Kamenik AS, Liedl KR. Catalytic Site pKa Values of Aspartic, Cysteine, and Serine Proteases: Constant pH MD Simulations. J Chem Inf Model 2020;60:3030–3042.
17. Wieczorek R, Adamala K, Gasperi T, Polticelli F, Stano P. Small and Random Peptides: An Unexplored Reservoir of Potentially Functional Primitive Organocatalysts. The Case of Seryl-Histidine. Life 2017;7:19.
18. Bissantz C, Kuhn B, Stahl M. A Medicinal Chemist's Guide to Molecular Interactions. J Med Chem 2010;53:5061–5084.
19. Ring AM, Manglik A, Kruse AC, Enos MD, Weis WI, Garcia KC, et al. Adrenaline-activated structure of β2-adrenoceptor stabilized by an engineered nanobody. Nature 2013;502:575–579.
20. Chester AH, Yacoub MH. The role of endothelin-1 in pulmonary arterial hypertension. Glob Cardiol Sci Pract 2014;2014:62–78.

21. Devi LA. The G-protein coupled receptors handbook. Totowa, NJ: Humana Press; 2008

22. Hillenbrand M, Schori C, Schöppe J, Plückthun A. Comprehensive analysis of heterotrimeric G-protein complex diversity and their interactions with GPCRs in solution. Proc Natl Acad Sci 2015;112:E1181–90.

23. Thanawala VJ, Forkuo GS, Stallaert W, Leff P, Bouvier M, Bond R. Ligand bias prevents class equality among beta-blockers. Curr Opin Pharmacol 2014;0:50–57.

24. Stevens RC, Cherezov V, Katritch V, Abagyan R, Kuhn P, Rosen H, et al. The GPCR Network: a large-scale collaboration to determine human GPCR structure and function. Nat Rev Drug Discov 2013;12:25–34.

25. Ballesteros JA, Weinstein H. Integrated methods for the construction of three-dimensional models and computational probing of structure-function relations in G protein-coupled receptors. Methods Neurosci., vol. 25, Elsevier; 1995, p. 366–428.

26. McCorvy JD, Butler KV, Kelly B, Rechsteiner K, Karpiak J, Betz RM, et al. Structure-inspired design of β-arrestin-biased ligands for aminergic GPCRs. Nat Chem Biol 2018;14:126–134.

27. Dunlap N, Huryn DM. Medicinal chemistry. New York , NY: Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC; 2018.

28. Traynelis SF, Wollmuth LP, McBain CJ, Menniti FS, Vance KM, Ogden KK, et al. Glutamate Receptor Ion Channels: Structure, Regulation, and Function. Pharmacol Rev 2010;62:405–496.

29. Godfraind T. Discovery and Development of Calcium Channel Blockers. Front Pharmacol 2017;8:286.

30. Dilmac N, Hilliard N, Hockerman GH. Molecular Determinants of Frequency Dependence and Ca2+ Potentiation of Verapamil Block in the Pore Region of Cav1.2. Mol Pharmacol 2004;66:1236–1247.

31. Biedermann F, Ghale G, Hennig A, Nau WM. Fluorescent artificial receptor-based membrane assay (FARMA) for spatiotemporally resolved monitoring of biomembrane permeability. Commun Biol 2020;3:383.

32. Anker SD, Butler J, Filippatos G, Ferreira JP, Bocchi E, Böhm M, et al. Empagliflozin in Heart Failure with a Preserved Ejection Fraction. N Engl J Med 2021;385:1451–1461.

33. Mirzadegan T, Benkö G, Filipek S, Palczewski K. Sequence analyses of G-protein-coupled receptors: similarities to rhodopsin. Biochemistry 2003;42:2759–2767.

34. Zarrin AA, Bao K, Lupardus P, Vucic D. Kinase inhibition in autoimmunity and inflammation. Nat Rev Drug Discov 2021;20:39–63.

35. Tai W, Mahato R, Cheng K. The role of HER2 in cancer therapy and targeted drug delivery. J Controlled Release 2010;146:264–275.

36. Porter BA, Ortiz MA, Bratslavsky G, Kotula L. Structure and Function of the Nuclear Receptor Superfamily and Current Targeted Therapies of Prostate Cancer. Cancers 2019;11:E1852.

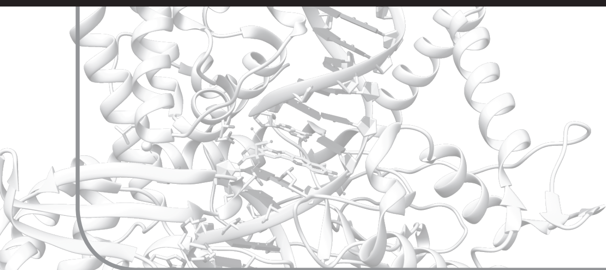
37. Bandyopadhyay A, Gao J. Targeting biomolecules with reversible covalent chemistry. Curr Opin Chem Biol 2016;34:110–6.

38. Zapun A, Contreras-Martel C, Vernet T. Penicillin-binding proteins and β-lactam resistance. FEMS Microbiol Rev 2008;32:361–85.

39. Vuong W, Khan MB, Fischer C, Arutyunova E, Lamer T, Shields J, et al. Feline coronavirus drug inhibits the main protease of SARS-CoV-2 and blocks virus replication. Nat Commun 2020;11:4282.

40. Pillaiyar T, Manickam M, Namasivayam V, Hayashi Y, Jung S-H. An Overview of Severe Acute Respiratory Syndrome–Coronavirus (SARS-CoV) 3CL Protease Inhibitors: Peptidomimetics and Small Molecule Chemotherapy. J Med Chem 2016;59:6595–628.

Chương 2



DƯỢC LỰC HỌC

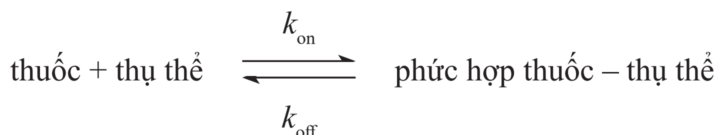
Lâm Bảo Vy

Dược lực học (Pharmacodynamics - PD) là nghiên cứu về các tác dụng sinh hóa, tế bào, sinh lý của thuốc và cơ chế tác động của chúng, hay nói cách khác là nghiên cứu thuốc có ảnh hưởng như thế nào đến cơ thể. Tác dụng của hầu hết các thuốc là kết quả từ sự tương tác của chúng với các đại phân tử của sinh vật, được gọi là đích tác động của thuốc (xem Chương 1). Như vậy, tối ưu hóa các tương tác này là một mục tiêu quan trọng nhằm thiết kế thuốc hiệu quả. Chương dưới đây giới thiệu các khái niệm chính về dược lực học liên quan đến quá trình khám phá và phát triển thuốc, tập trung đến hai nhóm đích tác động quan trọng của thuốc là thụ thể và enzyme.

1. ĐÍCH TÁC ĐỘNG LÀ THỤ THỂ [1,2,3]

1.1. Tương tác thuốc - thụ thể

Để hiểu rõ cơ chế tác động của thuốc, cần phải hiểu các lực liên kết thuốc với thụ thể của chúng. Động lực thúc đẩy tương tác thuốc - thụ thể có thể được coi là trạng thái năng lượng thấp của phức hợp thuốc - thụ thể (Sơ đồ 2.1), trong đó k_{on} là hằng số tốc độ hình thành phức hợp, phụ thuộc vào nồng độ của thuốc và của thụ thể, và k_{off} là hằng số tốc độ phân hủy phức hợp, phụ thuộc vào nồng độ của phức hợp thuốc - thụ thể cũng như các yếu tố khác.



$$\text{thuốc + thụ thể} \underset{k_{off}}{\overset{k_{on}}{\rightleftharpoons}} \text{phức hợp thuốc – thụ thể}$$

Sơ đồ 2.1. Sự cân bằng giữa thuốc, thụ thể và phức hợp hình thành

Hoạt tính sinh học của thuốc có liên quan đến ái lực của nó với thụ thể, tức là tính ổn định của phức hợp thuốc - thụ thể. Tính ổn định này thường được đo bằng mức độ phân ly của phức hợp, được biểu thị bằng giá trị K_d, hằng số phân ly của phức hợp ở trạng thái cân bằng. Với:

$$K_d = \frac{[\text{thuốc}][\text{thụ thể}]}{[\text{phức hợp thuốc – thụ thể}]}$$

Giá trị K_d càng nhỏ thì nồng độ của phức hợp càng cao, hay phức hợp càng bền và ái lực của thuốc với thụ thể càng mạnh.

Sự hình thành phức hợp thuốc - thụ thể là một trạng thái cân bằng phức tạp. Trên thực tế, thuốc và thụ thể được solvat hóa và tồn tại như một hỗn hợp cân bằng của nhiều cấu dạng khác nhau. Để hình thành phức hợp, các phân tử dung môi nằm trong vị trí liên kết của thụ thể cần được thay thế bằng các phân tử thuốc. Thêm vào đó, sự hình thành phức hợp này không thuận lợi về mặt entropy, do làm giảm mức độ tự do về cấu dạng của cả thuốc và thụ thể cũng như giảm mức độ tự do về khả năng quay và tịnh tiến. Do đó, các tiếp xúc có lợi cho enthalpy (tương tác) giữa thuốc và thụ thể cần phải bù đắp vào sự mất entropy này.

Các tương tác chính giữa thuốc và thụ thể bao gồm liên kết cộng hóa trị (covalent bonding), tương tác ion hay tĩnh điện (ionic-electrostatic interaction), tương tác ion - lưỡng cực và lưỡng cực - lưỡng cực (ion-dipole, dipole-dipole interaction), liên kết hydro (hydrogen bonding), tương tác truyền điện tích (charge-transfer interaction), tương tác kị nước (hydrophobic interaction), tương tác cation-π (cation-π interaction), liên kết halogen (halogen bonding) và tương tác van der Waals. Những tương tác này cũng có thể áp dụng cho các nhóm đích tác động khác của thuốc như enzyme và DNA.

Tương tác yếu thường chỉ có thể xảy ra khi bề mặt các phân tử nằm gần nhau và bổ sung cho nhau, nghĩa là độ bền liên kết phụ thuộc vào khoảng cách. Sự hình thành tự phát của liên kết giữa các nguyên tử xảy ra với sự giảm năng lượng tự do, nghĩa là với giá trị ΔG âm:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

(Với ΔH là sự thay đổi về enthalpy và ΔS là sự thay đổi về entropy).

$$\Delta G = 2.3RTlogK_d$$

[R = 0.00199 kcal/(mol.K) (hằng số khí lý tưởng), T = nhiệt độ (kelvin), K_d hằng số phân ly] [4].

Thông thường, các liên kết hình thành giữa thuốc và thụ thể là các tương tác yếu không cộng hóa trị; do đó, sự gắn kết mang tính thuận nghịch. Vì lý do này, thuốc chỉ có tác dụng trong một khoảng thời gian giới hạn và dần mất hiệu lực khi nồng độ thuốc trong dịch ngoại bào giảm, do chuyển hóa và đào thải. Tuy nhiên, trong một số trường hợp, tác dụng này đôi khi có thể kéo dài và không thuận nghịch, thường là do thuốc tạo các liên kết cộng hóa trị với đích tác động.

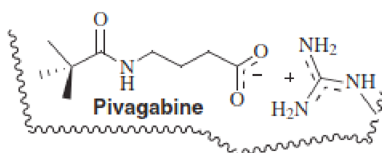
1.1.1. Liên kết cộng hóa trị

Liên kết mạnh nhất trong tương tác thuốc - thụ thể là liên kết cộng hóa trị, trong đó hai nguyên tử, một từ thuốc và một từ thụ thể, chia sẻ một cặp điện tử để tạo thành liên kết. Do có độ bền đáng kể (50 đến 150 kcal/mol), liên kết cộng hóa trị giữa thuốc và thụ thể thường không thuận nghịch, dẫn đến sự phân hủy của thụ thể thông qua quá trình nội bào hay hóa học. Một ví dụ là liên kết cộng hóa trị hình thành giữa phenoxybenzamine và thụ thể α-adrenergic từ phản ứng alkyl hóa các nhóm amino, sulfhydryl hay carboxyl của thụ thể [3].

1.1.2. Tương tác ion hay tĩnh điện

Đối với các thụ thể có cấu trúc protein, ở pH sinh lý (7.4), các amino acid với chuỗi bên mang tính base như arginine, lysine, histidine tồn tại dưới dạng cation do được proton hóa. Ngược lại, các amino acid mang tính acid như aspartic acid hay glutamic acid mất proton để hình thành dạng anion. Như vậy, phân tử thuốc và thụ thể mang các nhóm có điện tích trái ngược nhau có thể bị thu hút lẫn nhau để tạo tương tác tĩnh điện hay liên kết ion. Độ bền của liên kết này dao động trong khoảng 5-10 kcal/mol, và giảm tỷ lệ thuận với bình phương khoảng cách giữa hai nguyên tử. Liên kết ion đủ mạnh để hỗ trợ tương tác nhất thời ban đầu giữa thuốc và thụ thể, nhưng không giống như liên kết cộng hóa trị, liên kết ion không đủ mạnh để ngăn cản sự phân ly của phức hợp thuốc - thụ thể.

Xu hướng tham gia vào liên kết ion của một nguyên tử được xác định bởi độ âm điện của nó. Độ âm điện của hydrogen (làm chuẩn) có giá trị 2.2, của fluorine là 4.2, của chlorine là 2.9 và của nitrogen là 3.1. Như vậy, nguyên tử fluorine, chlorine cũng như các nhóm hydroxyl, sulfhydryl và carboxyl có khả năng tạo liên kết ion do có lực hút electron mạnh hơn so với hydrogen. Ngược lại, các nhóm alkyl không tham gia vào liên kết ion do có xu hướng hút electron yếu hơn so với hydrogen. Một ví dụ là thuốc chống trầm cảm pivagabine có thể tạo liên kết ion với amino acid arginine trong đích tác động (Hình 2.1).

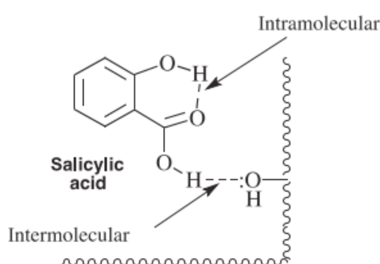


Hình 2.1. Ví dụ về tương tác ion hay tĩnh điện giữa thuốc và thụ thể [2]

1.1.3. Liên kết hydro

Liên kết hydro là một loại tương tác lưỡng cực - lưỡng cực hình thành giữa hydrogen của nhóm X-H, trong đó X là một nguyên tử âm điện (electronegative atom), với một hoặc nhiều nguyên tử âm điện khác (Y) chứa một cặp electron không liên kết. Các liên kết hydro quan trọng nhất diễn ra trong các phân tử với X và Y là nitrogen, oxygen và

ở mức độ thấp hơn là fluorine. X thu hút mật độ electron khỏi hydrogen nên hydrogen mang một phần điện tích dương, do đó bị hấp dẫn bởi các electron không liên kết của Y. Liên kết hydro được biểu diễn bằng đường đứt quãng, -X-H···Y-, để chỉ ra rằng liên kết cộng hóa trị giữa X và H vẫn tồn tại nhưng tương tác giữa H và Y cũng xảy ra. X được gọi là nhóm cho liên kết hydro và Y là nhóm nhận liên kết hydro. Khi X và Y tương đương nhau về độ âm điện và mức độ ion hóa, proton có thể được chia sẻ đều nhau giữa hai nhóm, -X···H···Y-, đây là một trường hợp đặc biệt của liên kết hydro (low-barrier hydrogen bond-LBHB). Liên kết hydro có thể hình thành giữa hai hay nhiều phân tử (liên kết liên phân tử - intermolecular), hay trong cùng một phân tử (liên kết nội phân tử - intramolecular), với lực liên kết nội phân tử mạnh hơn so với liên phân tử (Hình 2.2).



Hình 2.2. Ví dụ về liên kết hydro [2]

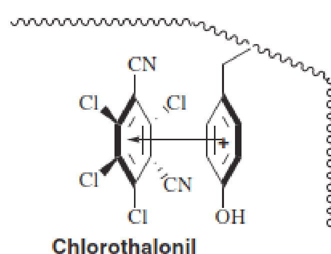
Liên kết hydro nội phân tử là một đặc tính quan trọng có thể ảnh hưởng đến quá trình tối ưu hóa chất khởi nguồn (lead compound) trong quá trình nghiên cứu và phát triển thuốc (xem thêm Chương 4). Thật vậy, cấu dạng có hoạt tính sinh học của phân tử (bioactive conformation) là cấu dạng cho liên kết tối ưu với thụ thể của nó. Khi phân tử mang các nhóm cho và nhận liên kết hydro có khả năng tương tác với nhau để tạo thành vòng 5 hay 6 cạnh bền, cấu dạng này có thể gần giống hay không với cấu dạng có hoạt tính sinh học, và như vậy ảnh hưởng đến khả năng tương tác với thụ thể. Độ bền của vòng tạo ra từ liên kết hydro nội phân tử theo thứ tự sau: vòng sáu cạnh > vòng năm cạnh > vòng bảy cạnh, với độ bền của nhóm nhận: carbonyl > N dị vòng > sulfoxide > alkoxyl. Ngoài ra, ảnh hưởng của liên kết hydro nội phân tử có thể trở nên đáng kể khi thay thế nguyên tử oxygen của nhóm ether (có khả năng tạo liên kết hydro mạnh) bằng nguyên tử sulfur của nhóm đồng thể tích điện sinh học (bioisostere) thioether (có thể hay không thể tạo liên kết hydro yếu) (xem thêm Chương 4). Điều này có thể có tác động lớn đến hiệu lực và tác dụng sinh học của phân tử. Ảnh hưởng của sự thay thế này cũng có thể xảy ra đối với liên kết hydro liên phân tử giữa thuốc và thụ thể.

Với độ bền từ 2-5 kcal/mol, liên kết hydro mạnh hơn tương tác van der Waals nhưng yếu hơn liên kết cộng hóa trị và liên kết ion. Chỉ duy nhất một liên kết hydro đơn lẻ không đủ để hỗ trợ tương tác thuốc - thụ thể, tuy nhiên, khi nhiều liên kết hydro được hình thành, phức hợp thuốc - thụ thể có thể được ổn định.

1.1.4. Tương tác truyền điện tích

Khi một phân tử (hoặc nhóm) cho điện tử tiếp xúc với phân tử (hoặc nhóm) nhận điện tử, nhóm cho điện tử có thể chuyển một phần điện tích cho nhóm nhận, tạo thành một phức hợp truyền điện tích (charge-transfer complex). Trên thực tế, đây là một dạng tương tác lưỡng cực - lưỡng cực. Thế năng (potential energy) của tương tác này tỷ lệ với sự khác biệt giữa thế năng ion hóa (ionization potential) của nhóm cho và ái lực điện tử (electron affinity) của nhóm nhận.

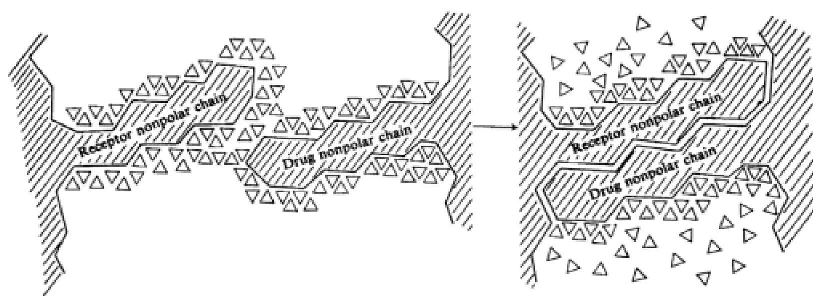
Nhóm cho điện tử chứa các electron π, như alkene, alkyne, và các vòng thơm mang nhóm thế cho điện tử, hay nhóm chứa một cặp electron không liên kết như oxygen, nitrogen, sulfur. Nhóm nhận điện tử chứa các orbitan π thiếu điện tử (electron-deficient π-orbital), như alkene, alkyne, và vòng thơm mang nhóm thế rút điện tử, và proton có tính acid yếu. Một số nhóm trong cấu trúc protein của thụ thể có thể hoạt động như nhóm cho điện tử, như vòng thơm của tyrosine hay nhóm carboxylate của aspartate. Một ví dụ là liên kết truyền điện tích giả định giữa thuốc kháng nấm chlorothalonil với amino acid tyrosine của thụ thể (Hình 2.3). Độ bền của tương tác này thường khoảng 1-7 kcal/mol.



Hình 2.3. Ví dụ về tương tác truyền điện tích [2]

1.1.5. Tương tác kị nước

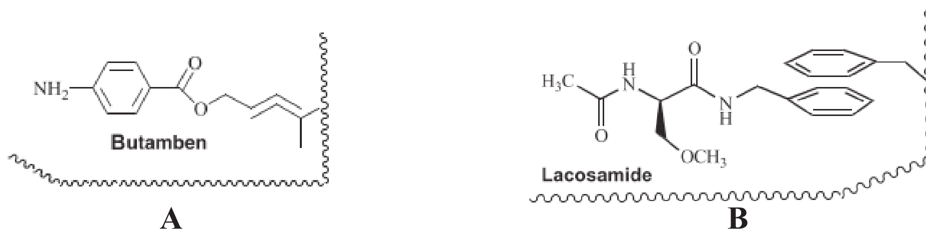
Trong môi trường chứa các phân tử hoặc vùng phân tử không phân cực, các phân tử nước xung quanh tự định hướng lại và do đó có trạng thái năng lượng cao hơn so với khi chỉ có các phân tử nước khác ở xung quanh. Khi hai nhóm không phân cực, trong đó mỗi nhóm được bao quanh bởi các phân tử nước sắp xếp có trật tự, tiến lại gần nhau, trật tự của các phân tử nước này bị phá vỡ trong nỗ lực liên kết với nhau. Điều này làm tăng entropy dẫn đến làm giảm năng lượng tự do ($\Delta G = \Delta H - T\Delta S$), giúp ổn định phức hợp thuốc - thụ thể. Sự ổn định này được gọi là tương tác kị nước (Hình 2.4).



Hình 2.4. Sự hình thành tương tác kỵ nước
(các phân tử nước được biểu diễn bằng các hình tam giác) [2]

Hình 2.5A là một ví dụ về tương tác kị nước có thể hình thành giữa thuốc gây tê butamben với gốc isoleucine của thụ thể.

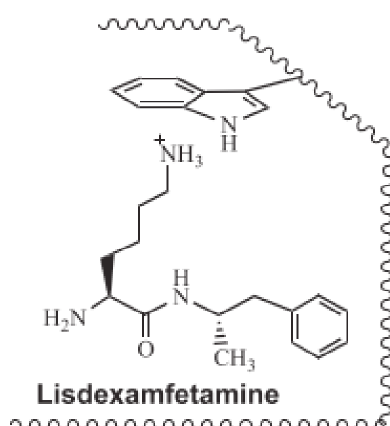
Một loại tương tác kị nước khác, gọi là tương tác π-π, liên quan đến hai nhóm aryl. Tương tác π-π phổ biến được hình thành từ sự sắp xếp song song các vòng thơm, trong đó các electron π tương tác theo kiểu "mặt đối mặt", gọi là π-stacking. Ví dụ như tương tác π-stacking giả định giữa thuốc chống co thắt lacosamide với phenylalanine (Hình 2.5B). Ngoài ra, tương tác π-π cũng có thể được tạo ra với sắp xếp hình chữ T (T-shaped), trong đó cạnh của một vòng thơm tạo thành hình chữ T với mặt của vòng thơm còn lại. Khi một vòng thiếu điện tử và vòng kia giàu điện tử thì quá trình truyền điện tích cũng đóng vai trò quan trọng.



Hình 2.5. Ví dụ về tương tác kị nước [2]

1.1.6. Tương tác cation - π

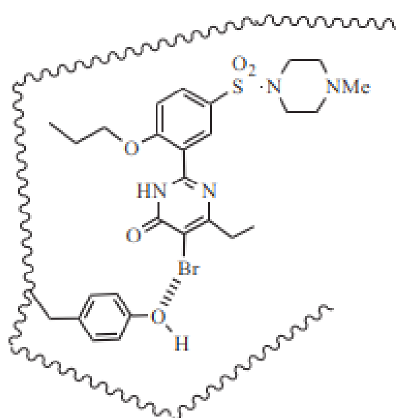
Tương tác này rất phổ biến trong cấu trúc protein và cũng có thể được khai thác cho các tương tác thuốc - thụ thể. Trong protein, vòng thơm phổ biến nhất tham gia vào liên kết cation-π là tryptophan (tuy nhiên cũng có thể xảy ra với phenylalanine, tyrosine và histidine) và cation phổ biến nhất trong tương tác này là arginine (tuy nhiên lysine cũng đóng vai trò quan trọng). Nhóm cation trong phân tử thuốc có thể hình thành tương tác cation-π với vòng thơm trên thụ thể hoặc ngược lại. Hình 2.6 là một ví dụ về liên kết có thể hình thành giữa ion ammonium của lisdexamfetamine (thuốc trị rối loạn tăng động giảm chú ý - ADHD) và tryptophan trong cấu trúc của thụ thể. Độ bền của tương tác này có thể nằm trong khoảng 0.5-7 kcal/mol.



Hình 2.6. Ví dụ về tương tác cation-π [2]

1.1.7. Liên kết halogen

Nguyên tử halogen mang liên kết cộng hóa trị có thể hoạt động như một nhóm nhận điện tử (acid Lewis) để hình thành liên kết halogen với một nguyên tử cho giàu điện tử (electron-rich donor atom) như O, N hay S. Các cấu trúc tinh thể và dữ liệu cơ học lượng tử/cơ học phân tử cho thấy rằng nhiều khoảng cách liên kết từ halogen đến oxygen (hoặc nitrogen) bằng hoặc nhỏ hơn tổng các bán kính van der Waals tương ứng, cho thấy sự hình thành liên kết halogen (tương tự như liên kết hydro). Độ bền của các tương tác này theo thứ tự: H ≈ I > Br > Cl > F. Tương tác này được hình thành từ sự dị hướng (anisotropy) của mật độ electron trên nguyên tử halogen, tạo ra bởi khoảng trống σ (σ-hole), một vùng tích điện dương ở mặt sau của nguyên tử halogen dọc theo trục liên kết R-X. Tương tác halogen có thể chi phối cấu dạng của phân tử thuốc trong vị trí liên kết với protein. Độ bền của liên kết này có thể dao động từ 1-15 kcal/mol, nhưng thường nằm trong khoảng 1-5 kcal/mol. Một ví dụ được minh họa trong Hình 2.7 giữa một chất ức chế phosphodiesterase type 5 với amino acid tyrosine trong vị trí liên kết.



Hình 2.7. Ví dụ về liên kết halogen [2]

1.1.8. Tương tác van der Waals

Các nguyên tử trong phân tử không phân cực có thể có mật độ electron phân bố không đối xứng một cách tạm thời, dẫn đến tạo ra lưỡng cực tạm thời. Khi các nguyên tử từ các phân tử khác nhau (ví dụ như thuốc và thụ thể) tiến đến gần nhau, lưỡng cực tạm thời của một phân tử có thể dẫn đến sự hình thành một lưỡng cực nghịch chiều trong phân tử còn lại. Điều này hình thành các lực hấp dẫn liên phân tử, gọi là lực van der Waals. Tương tác yếu này chỉ trở nên đáng kể khi bề mặt các phân tử tiếp xúc gần với nhau. Tuy nhiên, khi các bề mặt phân tử bổ sung lẫn nhau (molecular complementary), nhiều tương tác nguyên tử có thể được hình thành (mỗi tương tác đóng góp khoảng 0.5 kcal/mol), từ đó góp phần đáng kể vào liên kết thuốc - thụ thể.

1.2. Tác dụng tạo ra từ tương tác thuốc - thụ thể

Các thụ thể và chất truyền tín hiệu hóa học (chemical messenger) đóng vai trò rất quan trọng trong hệ thống truyền thông tin và hoạt động bình thường của tế bào và cơ thể (xem Chương 1). Hoạt động của các thụ thể thường được điều chỉnh bởi sự gắn kết của các phối tử nội sinh (endogenous ligand) (ví dụ như hormone, chất dẫn truyền thần kinh,…). Trong nhiều trường hợp, sự mất cân bằng của các phối tử này có thể dẫn đến hoạt động bất thường của thụ thể và phát triển bệnh hay triệu chứng của bệnh. Như vậy, thuốc có thể có tác dụng mô phỏng hoặc ngăn chặn sự gắn kết của các phối tử này với thụ thể của nó trong mục đích tái tạo lại hoạt động bình thường của tế bào.

1.2.1. Chất chủ vận (Agonist)

Khi một phân tử gắn kết với thụ thể (có ái lực với thụ thể) và kích hoạt thụ thể này để tạo ra đáp ứng sinh học, chất này được gọi là chất chủ vận. Khả năng tạo ra đáp ứng sinh học được đánh giá bằng hiệu quả (efficacy) và hoạt tính nội tại (intrinsic activity) của chất. Hiệu quả của một chất chủ vận có thể được coi là thước đo mức độ tạo ra đáp ứng sinh học trên thụ thể liên quan: chất chủ vận hiệu quả cao có thể tạo ra đáp ứng tối đa trong khi chỉ gắn kết với một tỷ lệ tương đối thấp các thụ thể. Như vậy, chất chủ vận toàn phần (full agonist) có thể kích hoạt thụ thể để cho đáp ứng sinh học tối đa có thể tạo ra. Trong khi đó, chất chủ vận một phần (partial agonist) không thể tạo ra đáp ứng tối đa, ngay cả khi gắn kết với số lượng tối đa thụ thể. Hoạt tính nội tại (IA) của một chất được định nghĩa là:

$$IA = \frac{\text{Đáp ứng sinh học tối đa của chất}}{\text{Đáp ứng sinh học tối đa của chất chủ vận toàn phần}}$$

Thụ thể có thể được kích hoạt bởi chất chủ vận nội sinh (hormone, chất dẫn truyền thần kinh,…) hoặc ngoại sinh (thuốc). Cơ chế của quá trình kích hoạt thụ thể được trình bày cụ thể trong các chương sau nhưng nhìn chung là kết quả từ sự thay đổi cấu dạng của

thụ thể một khi gắn kết với chất chủ vận. Như vậy, ở mức độ phân tử, đáp ứng sinh học của chất chủ vận một phần có thể được giải thích bởi:

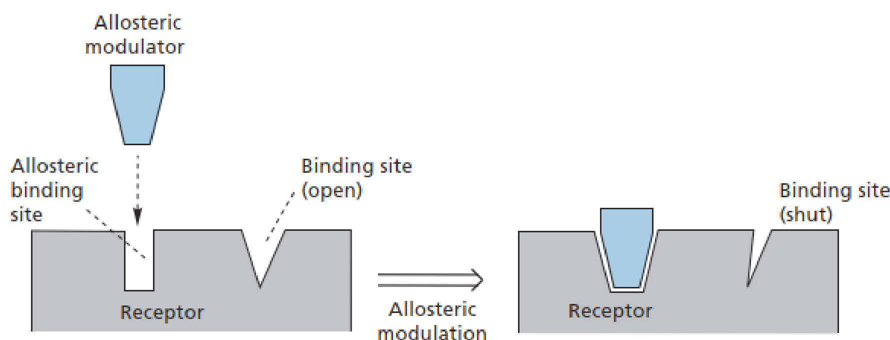
- Cách thức gắn kết với thụ thể dẫn đến sự thay đổi cấu dạng không lý tưởng nên làm giảm các hiệu ứng tạo ra sau đó.
- Có hai cách thức liên kết với thụ thể với những vùng gắn kết khác nhau, trong đó một phương thức gắn kết cho phép kích hoạt thụ thể nhưng phương thức kia thì không. Một cách giải thích khác là chất chủ vận một phần có thể ổn định hai cấu dạng khác nhau của thụ thể, một cấu dạng hoạt động (active) và cấu dạng kia bất hoạt (inactive).

Ngoài ra, một số thuốc có tác dụng chủ vận gián tiếp bằng cách hoạt động như một chất điều biến dị lập thể (allosteric modulator). Các chất này gắn kết với thụ thể ở vị trí dị lập thể (khác với vị trí gắn của chất chủ vận nội sinh) và tăng cường hoạt động của chất chủ vận nội sinh. Một ví dụ là nhóm benzodiazepine (thuốc ngủ) liên kết với vị trí dị lập thể trên thụ thể GABA-A.

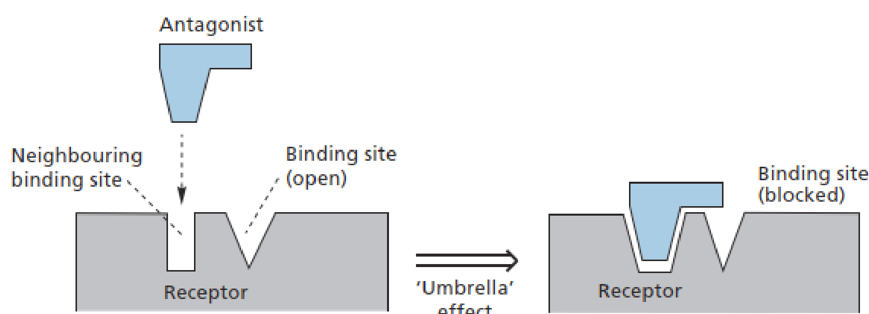
1.2.2. Chất đối vận (Antagonist)

Phân tử gắn kết với thụ thể nhưng không kích hoạt thụ thể mà ngược lại ngăn chặn sự gắn kết và hoạt tính sinh học của phối tử nội sinh được gọi là chất đối vận. Nói cách khác, chất đối vận có ái lực (affinity) nhưng không có hiệu quả (efficacy) trên thụ thể. Chất đối vận có thể liên kết với thụ thể tại cùng vị trí gắn kết với chất chủ vận nội sinh, trường hợp này gọi là đối vận cạnh tranh (competitive). Tuy nhiên, chất đối vận cũng có thể gắn kết tại vị trí khác trên thụ thể, gọi là đối vận không cạnh tranh (noncompetitive). Trong trường hợp này, tác dụng đối vận được tạo ra một cách gián tiếp, có thể được giải thích bởi:

- Sự gắn kết của chất đối vận tại vị trí dị lập thể (allosteric binding site), dẫn đến sự thay đổi trong cấu trúc của vị trí liên kết với chất chủ vận nội sinh, do đó ngăn cản hay làm giảm khả năng liên kết này (Hình 2.8).
- "Hiệu ứng ô" (umbrella effect): chất đối vận gắn với thụ thể ở vị trí gần với vị trí liên kết của chất chủ vận nội sinh và tạo ra cản trở trong không gian (Hình 2.9).



Hình 2.8. Cơ chế đối vận dị lập thể [1]

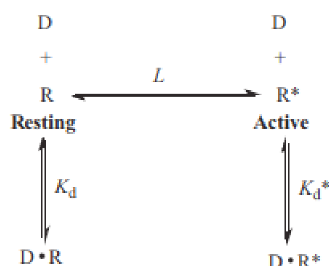


Hình 2.9. Đối vận bởi "hiệu ứng ô" [1]

1.2.3. Chất chủ vận nghịch đảo (inverse agonist)

Chất chủ vận nghịch đảo liên kết với thụ thể và tạo ra đáp ứng dược lý ngược lại so với đáp ứng gây ra bởi chất chủ vận. Hiện tượng này xảy ra khi thụ thể có một mức độ hoạt tính cơ bản (constitutional/basal activity) hay nội tại (intrinsic activity), nghĩa là có khả năng tạo ra đáp ứng sinh học mà không cần gắn kết với chất chủ vận. Khi đó, chất chủ vận sẽ làm tăng hoạt tính của thụ thể trên mức cơ bản, trong khi chất chủ vận nghịch đảo làm giảm hoạt tính dưới mức cơ bản.

Việc phát hiện hoạt tính cơ bản (nội tại) của thụ thể gợi ý một mô hình hai trạng thái kích hoạt thụ thể (two-state model of receptor activation). Theo đó, khi không có chất chủ vận (nội sinh hay ngoại sinh), các thụ thể tồn tại ở trạng thái cân bằng (xác định bởi hằng số cân bằng L) giữa cấu dạng hoạt động R^* (active state) có khả năng khởi đầu đáp ứng sinh học, và cấu dạng nghỉ R (resting state) không có khả năng này (Hình 2.10). Sự cân bằng giữa R^* và R xác định hoạt tính cơ bản của thụ thể. Thuốc có thể liên kết với một hay cả hai trạng thái cấu dạng này, phụ thuộc vào hằng số cân bằng K_d và K_d^* để hình thành phức hợp thuốc - thụ thể tương ứng với trạng thái nghỉ (D-R) và hoạt động (D-R^*). Như vậy, chất chủ vận toàn phần liên kết với cấu dạng hoạt động và làm thay đổi trạng thái cân bằng hoàn toàn sang trạng thái hoạt động, tạo ra đáp ứng tối đa. Chất chủ vận một phần có ái lực với cấu dạng hoạt động nhưng không đến mức độ như chất chủ vận toàn phần, do đó không tạo ra đáp ứng tối đa. Trong khi đó, chất chủ vận nghịch đảo toàn phần liên kết với cấu dạng nghỉ và làm dịch chuyển hoàn toàn trạng thái cân bằng sang trạng thái nghỉ, làm giảm hoạt tính cơ bản. Chất đối vận có ái lực như nhau với cả hai cấu dạng của thụ thể, do đó không tạo ra đáp ứng.



Hình 2.10. Sơ đồ mô hình hai trạng thái kích hoạt thụ thể [2]

1.3. Một số phương pháp đánh giá tác dụng từ tương tác thuốc - thụ thể

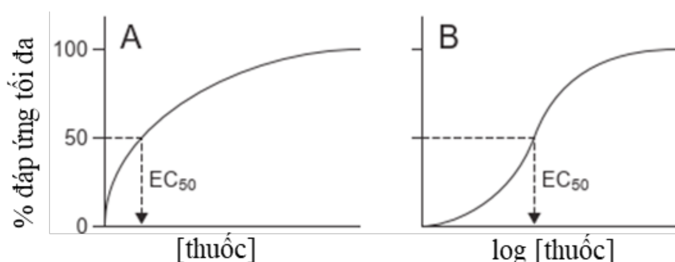
1.3.1. Mối quan hệ liều lượng - đáp ứng (dose - response relationship)

Sự tương tác của giữa thuốc [D] và thụ thể [R] hình thành phức hợp thuốc - thụ thể [DR] tạo ra đáp ứng sinh học được minh họa dưới đây (Sơ đồ 2.2). Sự tương tác này trong đa số trường hợp mang tính thuận nghịch.



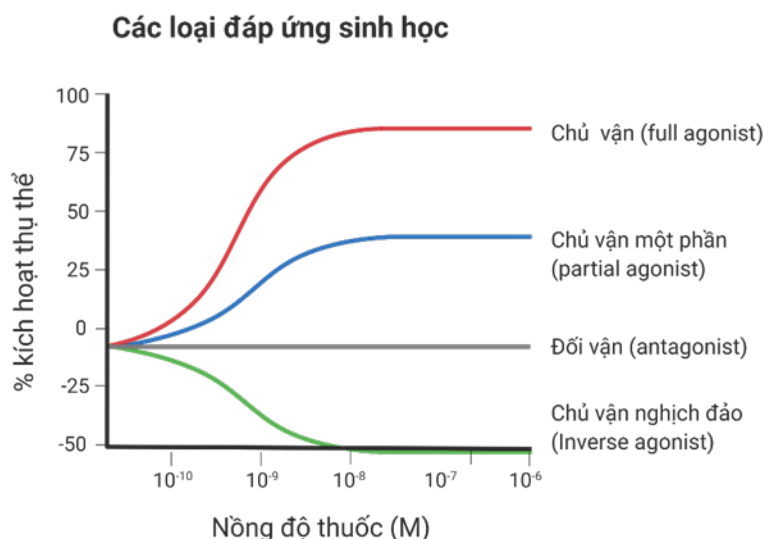
Sơ đồ 2.2. Sự tương tác giữa thuốc và thụ thể tạo ra đáp ứng sinh học

Đáp ứng sinh học tạo ra có thể được theo dõi bằng cách vẽ đồ thị giữa liều lượng hoặc nồng độ của thuốc so với tác dụng tạo ra (theo tỷ lệ %), có dạng đường hyperbol (Hình 2.11A). Tuy nhiên, khó có thể ngoại suy (extrapolate) một cách chính xác thông tin định lượng từ dạng đồ thị này. Ngược lại, khi sử dụng giá trị log của nồng độ hay liều thuốc, đồ thị tạo ra là một đường cong sigmoid (Hình 2.11B). Hàm này mang tính tuyến tính tương đối ở phần đường cong gần điểm trung tâm, do đó các phép ngoại suy về định lượng chính xác hơn. Đồ thị này được gọi là đường cong liều lượng - đáp ứng hay nồng độ - đáp ứng (dose-response, concentration-response curve). Phần đầu của đồ thị tương ứng với nồng độ thấp của thuốc dẫn đến đáp ứng yếu do số lượng ít các phân tử thuốc có sẵn để tương tác với thụ thể. Khi nồng độ này tăng lên, một mối quan hệ gần như tuyến tính được quan sát thấy. Khi hầu hết các thụ thể đã liên kết với thuốc, xác suất của tương tác thuốc - thụ thể giảm và đồ thị mất tính tuyến tính (phần đồ thị ở nồng độ cao của thuốc).



Hình 2.11. Đồ thị giữa (A) liều hay nồng độ thuốc và (B) log của liều hay nồng độ thuốc so với đáp ứng sinh học tạo ra

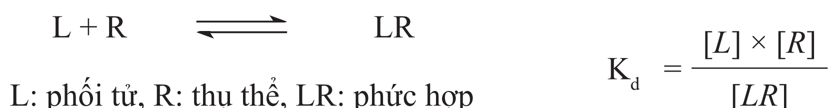
Đường cong liều lượng (nồng độ) - đáp ứng có thể cho thấy các loại đáp ứng sinh học đề cập đến ở trên:



Hình 2.12. Tóm tắt các loại đáp ứng sinh học của thuốc khi gắn lên thụ thể. Chất chủ vận gắn và kích hoạt gần 100% hoạt tính của thụ thể. Chất chủ vận một phần kích hoạt thụ thể nhưng không đạt hoạt tính tối đa. Chất đối vận gắn kết với thụ thể nhưng không kích hoạt thụ thể. Chất chủ vận nghịch đảo làm giảm hoạt tính nội tại (constitutive activity) của thụ thể.

1.3.2. Ái lực (affinity), hiệu quả (efficacy) và hiệu lực (potency)

Như đề cập đến ở trên, ái lực của thuốc đối với thụ thể là thước đo cho biết thuốc liên kết mạnh như thế nào với thụ thể, được xác định bằng hằng số phân ly K_d tại trạng thái cân bằng:



$$L + R \rightleftharpoons LR$$

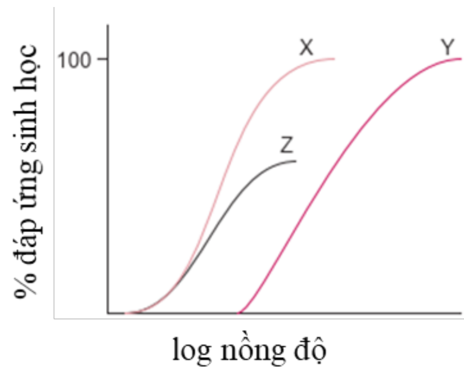
L: phối tử, R: thụ thể, LR: phức hợp

$$K_d = \frac{[L] \times [R]}{[LR]}$$

Trên thực tế, có nhiều phương pháp có thể sử dụng để đo K_d như sử dụng phối tử đánh dấu phóng xạ (radioligand binding assay - RBA), cộng hưởng plasmon bề mặt (surface plasmon resonance - SPR), phương pháp truyền năng lượng cộng hưởng huỳnh quang (fluorescence energy resonance transfer method - FRET), sắc ký ái lực (affinity chromatography), phép đo nhiệt lượng chuẩn độ đẳng nhiệt (isothermal titration calorimetry - ITC).

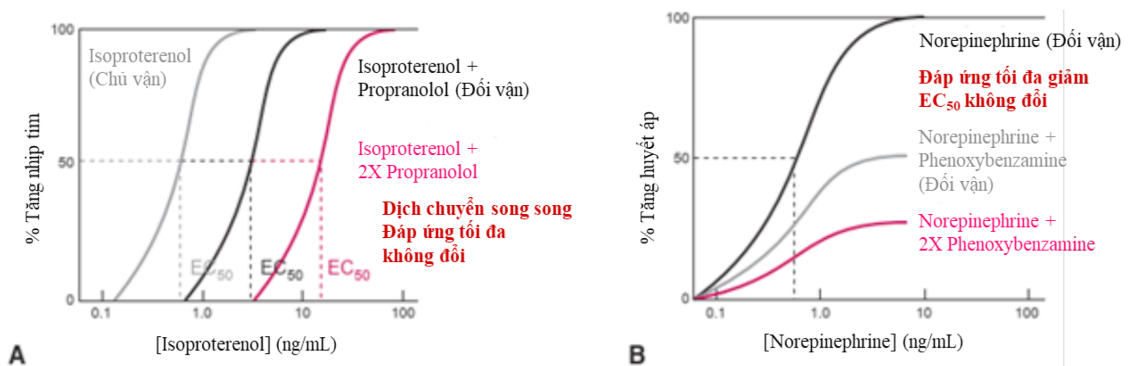
Hiệu quả (efficacy) là thước đo tác dụng sinh học tối đa mà thuốc có thể tạo ra từ liên kết với thụ thể. Một hợp chất có ái lực cao với thụ thể không nhất thiết có hiệu quả cao (như trong trường hợp của chất đối vận). Hiệu lực (potency) của thuốc liên quan đến lượng thuốc cần thiết để đạt được tác dụng sinh học xác định, liều lượng yêu cầu này càng thấp, hiệu lực của thuốc càng mạnh. Trên thực tế, nồng độ (hay liều) thuốc cần thiết để tạo ra 50% hiệu quả tối đa có thể (EC_{50}) thường được sử dụng để đánh giá hiệu lực của thuốc.

Đường cong liều lượng - đáp ứng thường được dùng để xác định một cách định tính và định lượng hiệu quả và hiệu lực của thuốc. Ví dụ như trong Hình 2.13, thuốc X có hiệu quả tương đương với thuốc Y, nhưng X có hiệu lực mạnh hơn Y; nghĩa là cả thuốc X và Y đều tạo ra 100% đáp ứng sinh học, nhưng thuốc X đạt được đáp ứng này ở nồng độ thấp hơn. Tương tự như vậy, thuốc Z có hiệu lực mạnh hơn thuốc Y, và tương đương với thuốc X. Tuy nhiên, Z không cho đáp ứng tối đa như Y và X, nói cách khác là có hiệu quả thấp hơn.



Hình 2.13. Mối quan hệ liều lượng (nồng độ) - đáp ứng

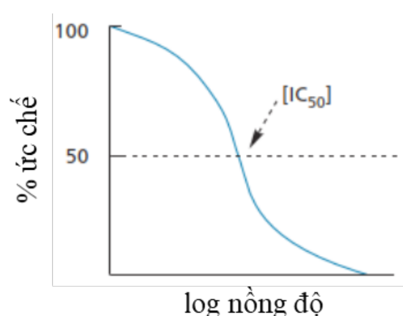
Hiệu lực của một chất chủ vận có thể giảm khi phải cạnh tranh với một chất đối vận tại cùng một vị trí gắn kết trên thụ thể. Trên đồ thị, điều này được minh họa bằng sự dịch chuyển song song sang phải của đường cong liều lượng - đáp ứng với đáp ứng tối đa không giảm (Hình 2.14A). Trong trường hợp chất đối vận gắn tại vị trí dị lập thể, hiệu quả của chất chủ vận sẽ giảm mà không ảnh hưởng đến hiệu lực (Hình 2.14B).



Hình 2.14. A. Đường cong liều lượng - đáp ứng cho tác dụng chủ vận của isoproterenol lên nhịp tim với sự hiện diện của chất đối vận cạnh tranh propranolol ở hai nồng độ khác nhau. B. Đường cong liều lượng – đáp ứng cho tác dụng của chất chủ vận norepinephrine lên huyết áp với sự hiện diện của chất đối vận không cạnh tranh phenoxybenzamine ở hai nồng độ khác nhau [3]

Ngoài ra, hiệu lực của một chất đối vận có thể được xác định bằng nồng độ ức chế 50% (half maximal inhibitory concentration - IC_{50}), tức là nồng độ cần thiết của chất đối vận để ức chế 50% đáp ứng sinh học tối đa tạo ra bởi chất chủ vận trên thụ thể (Hình 2.15). Giá trị IC_{50} càng nhỏ thì hiệu lực của chất đối vận càng mạnh. Đối với chất đối vận cạnh tranh, hằng số ức chế K_i có thể được xác định bằng phương trình Cheng-Prusoff, với [A] là nồng độ cố định của chất chủ vận:

$$K_i = \frac{IC_{50}}{\frac{[A]}{EC_{50}} + 1}$$



Hình 2.15. Đường cong ức chế

Tất cả các hằng số EC_{50}, IC_{50} và K_i đều chỉ hiệu lực (potency) của thuốc. Điểm khác biệt giữa hằng số ức chế K_i và IC_{50} là K_i không phụ thuộc vào bản chất của chất chủ vận đối chiếu A. Điều này cho phép so sánh các nghiên cứu có chất đối chiếu khác nhau.

1.4. Giảm nhạy cảm (desensitization) và gây nhạy cảm (sensitization)

Sự giảm nhạy cảm với thụ thể (receptor desensitization) là sự giảm đáp ứng sinh học xảy ra khi tiếp xúc nhiều lần hoặc lâu dài với chất chủ vận. Hiện tượng này có thể được giải thích bởi một số cơ chế. Một số thuốc liên kết tương đối mạnh với thụ thể và hoạt hóa thụ thể nhưng sau một thời gian nhất định lại ngăn chặn hoạt động của thụ thể. Nói cách khác, ban đầu thuốc có tác dụng chủ vận nhưng sau đó trở thành chất đối vận. Cơ chế của quá trình này vẫn chưa rõ ràng nhưng sự gắn kết kéo dài của chất chủ vận được cho là dẫn đến phosphoryl hóa các nhóm hydroxyl hoặc phenol của thụ thể. Điều này gây ra sự thay đổi cấu dạng của thụ thể thành dạng không hoạt động và cấu trúc này được duy trì khi chất chủ vận vẫn còn gắn kết. Một khi chất chủ vận rời khỏi thụ thể, quá trình khử phosphoryl hóa có thể diễn ra và thụ thể trở lại cấu dạng nghỉ ban đầu.

Mặt khác, phức hợp thuốc - thụ thể có thể bị loại bỏ hoàn toàn khỏi màng tế bào bằng quá trình nội bào (endocytosis) và bị chuyển hóa. Tuy nhiên, trong một số trường hợp, thụ thể có thể được tái sử dụng và đưa trở lại màng tế bào trong quá trình tái nhạy cảm (resensitization).

Ngoài ra, việc kích hoạt thụ thể kéo dài có thể dẫn đến việc giảm tổng hợp protein của thụ thể bởi tế bào.

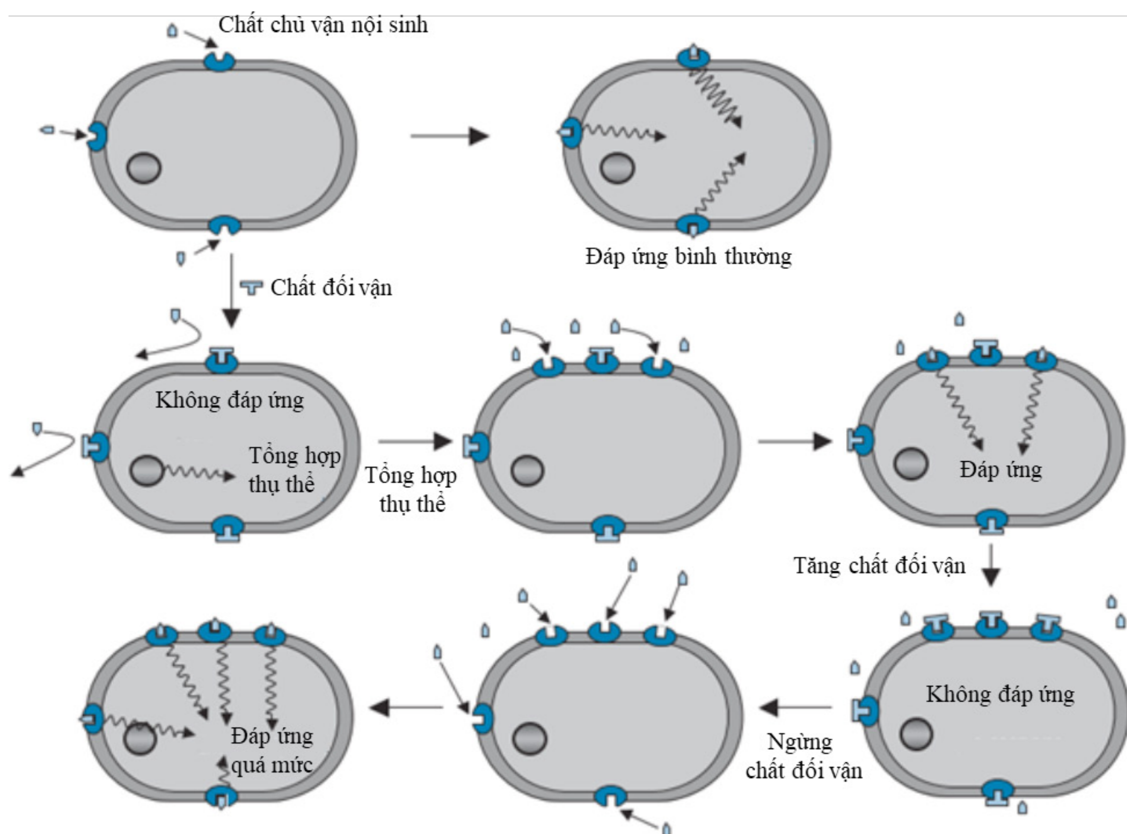
Ngược lại, chất đối vận thường có xu hướng gắn kết chậm hơn và phân ly khỏi thụ thể chậm hơn. Sự tiếp xúc kéo dài với chất đối vận có thể dẫn đến hiện tượng ngược lại với quá trình giảm nhạy cảm, tức là gây nhạy cảm. Điều này xảy ra khi tế bào tổng hợp nhiều thụ thể hơn để bù lại các thụ thể bị phong tỏa. Một ví dụ có thể xảy ra là khi sử dụng các thuốc chẹn β (β-blocker) trong thời gian dài.

1.5. Dung nạp (tolerance) và lệ thuộc (dependence)

Như đề cập đến ở trên, khi ngăn chặn thụ thể gắn kết với phối tử tự nhiên hay nội sinh (như chất dẫn truyền thần kinh, hormone,…) bằng cách sử dụng chất đối vận, tế bào có thể tổng hợp nhiều thụ thể hơn. Và như vậy, tế bào có thể có mức độ nhạy cảm cao hơn. Quá trình này có thể giải thích hiện tượng dung nạp và lệ thuộc thuốc (Hình 2.16).

Dung nạp là tình huống xảy ra khi cần một nồng độ hay liều lượng thuốc cao hơn để đạt được đáp ứng sinh học tương tự. Nếu thuốc sử dụng có tác dụng đối vận để ngăn chặn sự liên kết với chất chủ vận nội sinh thì tế bào có thể đáp ứng bằng cách tăng số lượng thụ thể. Do đó, cần tăng liều của thuốc để có được tác dụng đối vận như cũ. Mặt khác, khi đột ngột ngừng sử dụng thuốc, tất cả các thụ thể được giải phóng. Như vậy, với số lượng thụ thể nhiều hơn bình thường này, tế bào trở nên đặc biệt nhạy cảm với chất chủ vận nội sinh. Điều này tương tự như sử dụng quá liều chất chủ vận. Kết quả là dẫn đến các triệu chứng cai nghiện (withdrawal symptoms), kéo dài đến khi số lượng thụ thể trở lại mức ban đầu. Trong giai đoạn này, bệnh nhân có thể mong muốn sử dụng lại thuốc để giảm các triệu chứng này hay "trở lại bình thường" và trở nên lệ thuộc vào thuốc.

Dung nạp và lệ thuộc thuốc cũng xảy ra với các chất chủ vận, ví dụ như với opioid. Trong trường hợp này, quá trình giảm nhạy cảm diễn ra sau một thời gian sử dụng, đòi hỏi cần tăng liều của thuốc.



Hình 2.16. Tăng nhạy cảm tế bào do sự tổng hợp thêm thụ thể dẫn đến dung nạp và lệ thuộc [1]

2. ĐÍCH TÁC ĐỘNG LÀ ENZYME [1,2,3]

2.1. Giới thiệu chung

Trong cơ thể có hàng ngàn loại enzyme khác nhau và nhiều loại trong số đó hoạt động phối hợp để duy trì sự cân bằng nội môi. Mặc dù bệnh có thể phát sinh từ hoạt động bất thường của một enzyme cụ thể hay sự xâm nhập của một enzyme lạ qua sự lây nhiễm của vi sinh vật, việc ức chế một enzyme nhất định để giảm bớt bệnh là một nhiệm vụ phức tạp. Nói cách khác, việc thiết kế thuốc ức chế chọn lọc một loại enzyme để mang lại lợi ích điều trị trở nên rất khó khăn. Do đó, đầu tiên, để đạt được mục đích này, cần phải hiểu rõ cơ chế hoạt động của enzyme.

Nhìn chung, các chất ức chế enzyme được chia thành hai loại chính: ức chế thuận nghịch (reversible inhibitor) và ức chế không thuận nghịch (irreversible inhibitor). Sự gắn kết của chất ức chế với enzyme có thể ngăn cản sự gắn kết cơ chất hoặc làm giảm hoạt động của enzyme, từ đó cản trở hay làm chậm quá trình xúc tác tạo ra sản phẩm. Đối với chất ức chế thuận nghịch, chất ức chế có thể phân ly khỏi enzyme, tái tạo lại enzyme.

Ngược lại, trong quá trình ức chế không thuận nghịch, enzyme không thể được giải phóng một khi gắn kết với chất ức chế và cách duy nhất để tái tạo lại enzyme cho hoạt động xúc tác là từ quá trình phiên mã và dịch mã gene để tổng hợp enzyme mới. Sự ức chế không thuận nghịch thường liên quan đến sự hình thành liên kết cộng hóa trị giữa chất ức chế và enzyme. Liên kết này không thể dễ dàng bị phá vỡ và quá trình ức chế được xem là sự mất hoạt tính của enzyme phụ thuộc vào thời gian. Ngược lại, trong ức chế thuận nghịch, thường không có sự hình thành liên kết cộng hóa trị hoặc nếu có thì liên kết này có thể bị thủy phân để tái tạo lại enzyme và chất ức chế tự do. Do đó, hoạt tính của enzyme luôn có thể được phục hồi.

2.2. Chất ức chế thuận nghịch

2.2.1. Ức chế cạnh tranh (competitive inhibitor)

Các thuốc ức chế enzyme một cách thuận nghịch là các chất ức chế phổ biến nhất, đặc biệt là những thuốc cạnh tranh với cơ chất để gắn vào vị trí xúc tác của enzyme (active site), được gọi là các chất ức chế cạnh tranh. Thông thường, đây là những hợp chất có cấu trúc tương tự với cơ chất hoặc sản phẩm của enzyme và gắn kết tại vị trí gắn kết của cơ chất, do đó ngăn cản enzyme liên kết với cơ chất để thực hiện quá trình xúc tác. Do quá trình gắn kết mang tính thuận nghịch, khi nồng độ cơ chất tăng, sự ức chế của thuốc sẽ kém hiệu quả hơn.

Một số ví dụ về các chất ức chế cạnh tranh có thể kể đến như kháng sinh nhóm sulfonamide, thuốc ức chế acetylcholinesterase trong điều trị tăng nhãn áp và Alzheimer, thuốc ức chế enzyme phiên mã ngược tương đồng nucleoside (NRTI) trong điều trị HIV-1.

2.2.2. Ức chế không cạnh tranh (noncompetitive inhibitor) và phi cạnh tranh (uncompetitive inhibitor)

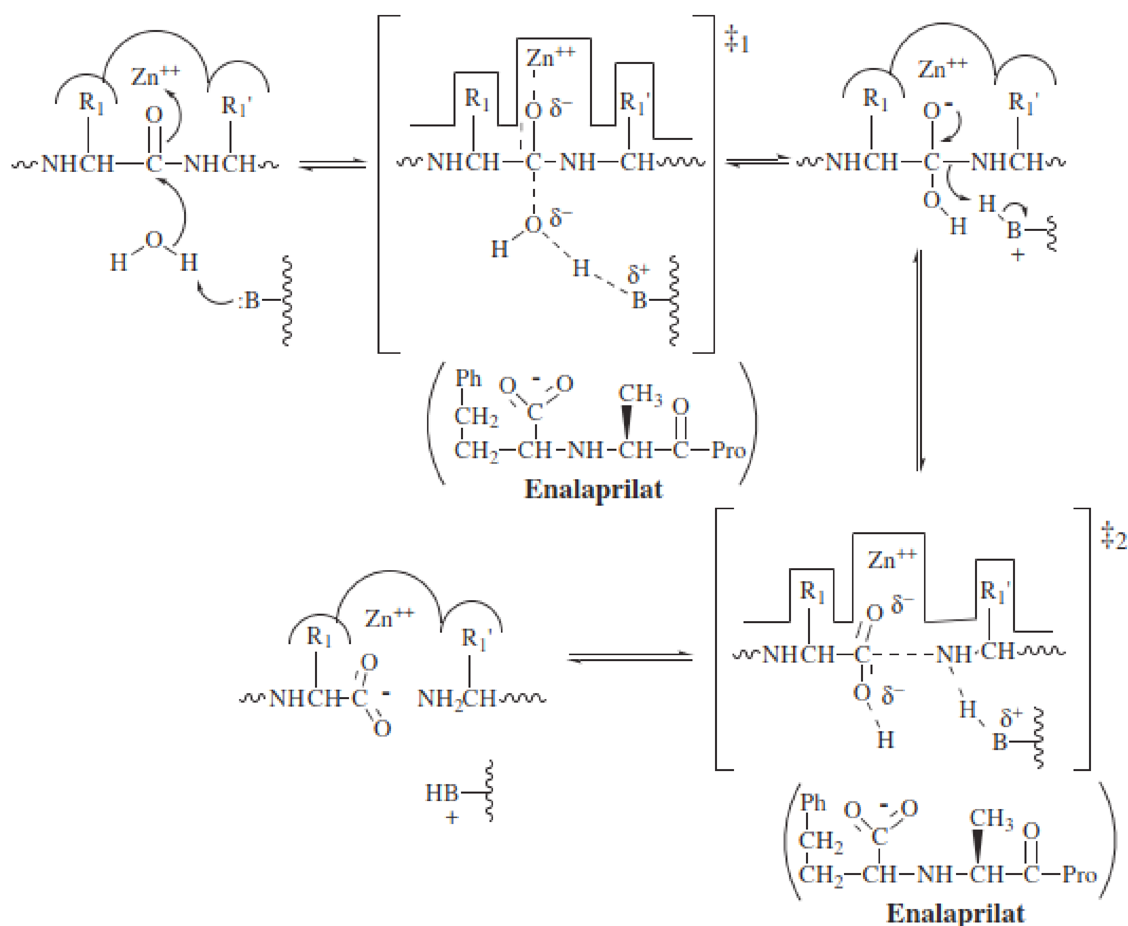
Về lý thuyết, chất ức chế không cạnh tranh (noncompetitive) liên kết với enzyme tại vị trí dị lập thể và ức chế phản ứng xúc tác của enzyme mà không ảnh hưởng đến sự gắn kết của cơ chất. Điều này xảy ra nếu sự liên kết với chất ức chế làm thay đổi cấu dạng của vị trí xúc tác đủ để ngăn cản quá trình xúc tác nhưng không tác động đến quá trình gắn kết với cơ chất. Tuy nhiên, trên thực tế, tình huống lý tưởng này rất hiếm khi xảy ra, do hầu như không thể tránh khỏi ảnh hưởng đến liên kết cơ chất - enzyme một khi vị trí xúc tác bị thay đổi. Do đó, các chất ức chế quá trình xúc tác trong khi vẫn cho phép enzyme gắn kết với cơ chất thường cũng hạn chế một phần sự gắn kết này. Đây gọi là sự ức chế hỗn hợp (mixed-inhibition).

Chất ức chế phi cạnh tranh (uncompetitive) là các chất ức chế chỉ liên kết với enzyme một khi cơ chất đã gắn kết tại vị trí xúc tác. Nói cách khác, chất ức chế này liên kết với phức hợp enzyme - cơ chất. Trong trường hợp này, việc tăng nồng độ cơ chất không thể

hạn chế sự ức chế. Thật vậy, mức độ ức chế phụ thuộc vào sự hiện diện của cơ chất đủ để tạo ra phức hợp enzyme - cơ chất. Do đó, các chất ức chế phi cạnh tranh có hiệu quả kém hơn ở nồng độ cơ chất thấp. Dạng ức chế này thường ít phổ biến trên thực tế.

2.2.3. Chất tương đồng trạng thái chuyển tiếp (transition-state analog)

Tất cả các phản ứng hóa học từ cơ chất đến sản phẩm phải vượt qua một hàng rào năng lượng và tiến hành thông qua một trạng thái chuyển tiếp hay phức hợp hoạt hóa có năng lượng cao. Hàng rào năng lượng này được gọi là năng lượng hoạt hóa. Như vậy, enzyme làm giảm năng lượng hoạt hóa so với phản ứng không có xúc tác bằng cách ổn định trạng thái chuyển tiếp và các dạng trung gian của phản ứng. Theo đó, các hợp chất có cấu trúc tương tự với cơ chất ở trạng thái chuyển tiếp có thể là chất ức chế enzyme hiệu quả, do sẽ có ái lực cao hơn so với cơ chất. Các chất ức chế này được gọi là chất tương đồng trạng thái chuyển tiếp. Một số ví dụ như các thuốc ức chế protease của HIV-1, thuốc ức chế men chuyển angiotensin (angiotensin-converting-enzyme-ACE) (Hình 2.17).



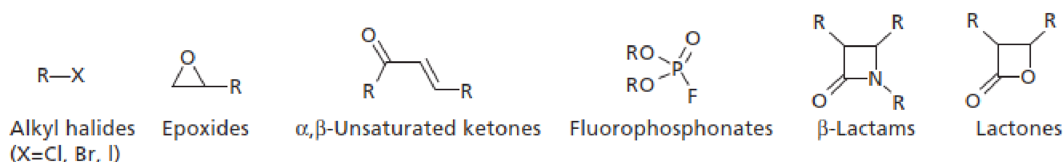
Hình 2.17. Cơ chế giả thuyết của phản ứng thủy phân peptide bởi ACE và sự tương đồng cấu trúc của enalaprilat với trạng thái chuyển tiếp (1 và 2) [2]

2.3. Chất ức chế không thuận nghịch

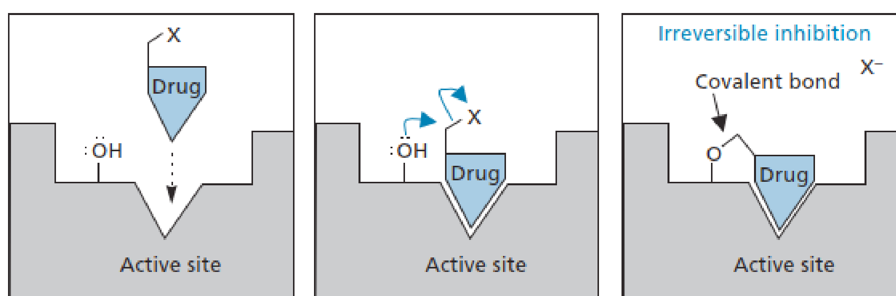
Như đề cập đến ở trên, ức chế không thuận nghịch enzyme được gọi là sự bất hoạt enzyme phụ thuộc vào thời gian, nghĩa là cấu trúc của enzyme bị thay đổi vĩnh viễn và không thể thực hiện chức năng xúc tác. Thông thường sự ức chế này là kết quả của liên kết cộng hóa trị bền hình thành giữa enzyme và chất ức chế. Về cơ bản, có hai loại chất ức chế không thuận nghịch: tác nhân đánh dấu ái lực (affinity label agent) hay chất ức chế hướng về vị trí xúc tác (active site-directed inhibitor) và chất ức chế dựa trên cơ chế (mechanism-based inhibitor).

2.3.1. Tác nhân đánh dấu ái lực

Các tác nhân đánh dấu ái lực là các hợp chất có cấu trúc tương tự với cơ chất và mang các nhóm chức có khả năng phản ứng (reactive group), thường là các nhóm ái điện tử (electrophile) (Hình 2.18). Sau khi hình thành phức hợp với enzyme, chất ức chế phản ứng với các nhóm chức ái nhân (nucleophile) trong vị trí xúc tác (như các nhóm -OH, -SH của chuỗi bên amino acid), thường là theo cơ chế acyl hóa hoặc alkyl hóa (SN2), để hình thành liên kết cộng hóa trị bền với enzyme (Hình 2.19). Chất ức chế không thuận nghịch không phải là chất ức chế cạnh tranh. Việc tăng nồng độ của cơ chất không thể đảo ngược lại tác dụng ức chế vì chất ức chế không thể phân ly khỏi vị trí gắn kết.



Hình 2.18. Ví dụ về các nhóm chức ái điện tử [1]



Hình 2.19. Ức chế không thuận nghịch enzyme bởi tác nhân alkyl hóa (X = halogen) [1]

Tuy nhiên, do nhóm phản ứng của chất ức chế có thể phản ứng với các nhóm chức ái nhân của các enzyme và phân tử sinh học khác ngoài enzyme đích, các hợp chất này có thể có tính chọn lọc kém và độc tính cao. Do đó, các yếu tố quan trọng để thiết kế hiệu quả các tác nhân này là tính đặc hiệu của liên kết với enzyme và mức độ phản ứng của nhóm phản ứng. Một số ví dụ về thuốc ức chế enzyme không thuận nghịch có thể kể đến

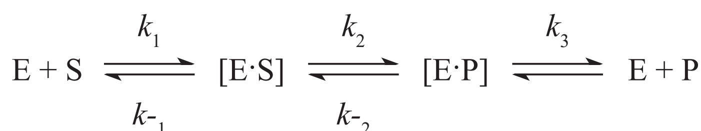
như nhóm kháng sinh β-lactam (ức chế peptidoglycan transpeptidase), aspirin (ức chế prostaglandin synthase).

2.3.2. Chất ức chế dựa trên cơ chế

Chất ức chế dựa trên cơ chế là một hợp chất không chứa nhóm có khả năng phản ứng và có cấu trúc tương tự với cơ chất. Tuy nhiên, một khi liên kết với enzyme tại vị trí xúc tác, chất ức chế sẽ được enzyme chuyển hóa thành một hợp chất có khả năng phản ứng cao và có thể bất hoạt enzyme (thông thường bằng cách hình thành liên kết cộng hóa trị). Như vậy, ban đầu, chất ức chế hoạt động như cơ chất của enzyme, do đó còn được gọi là cơ chất tự sát (suicide substrate). Một số ví dụ như clavulanic acid ức chế β-lactamase (Xem "Kháng sinh nhóm β-lactam", phần "Chất ức chế β-lactamase"), vigabatrin ức chế GABA aminotransferase.

2.4. Động học enzyme (enzyme kinetic)

Động học enzyme là nghiên cứu về tốc độ của phản ứng xúc tác bởi enzyme, từ đó có thể xác định cơ chế của phản ứng cũng như ảnh hưởng của các chất ức chế. Một cách đơn giản, đầu tiên, enzyme (E) liên kết với cơ chất (S) (substrate) tạo thành phức hợp enzyme - cơ chất [E·S], trải qua phản ứng hóa học đặc hiệu (quá trình xúc tác) để hình thành phức hợp enzyme - sản phẩm [E·P]. Sau đó, sản phẩm (P) phân ly khỏi enzyme và giải phóng enzyme tự do:

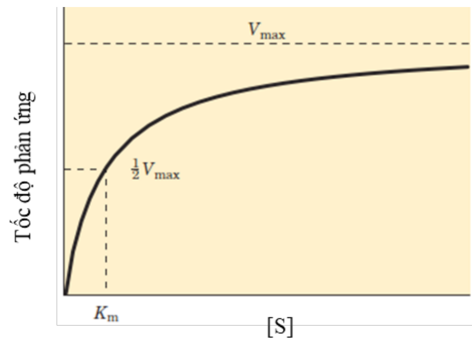


Sơ đồ 2.3. Động học của phản ứng xúc tác bởi enzyme

Động học của phản ứng xúc tác bởi enzyme có thể được biểu diễn bởi phương trình Michaelis-Menten, mô tả mối quan hệ giữa tốc độ phản ứng (υ) với nồng độ của cơ chất [S] và hai hằng số V_{max} và K_m:

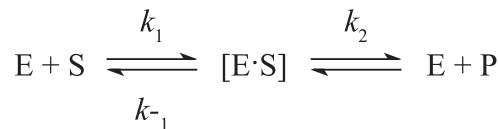
$$\upsilon = \frac{d[P]}{dt} = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$

Trong đó, V_{max} là tốc độ phản ứng tối đa của hệ thống với nồng độ bão hòa cơ chất trên một nồng độ enzyme nhất định và K_m (hằng số Michaelis) có giá trị bằng nồng độ cơ chất ở ½ tốc độ phản ứng tối đa ($V_{max}/2$), như được biểu diễn bởi đồ thị trong Hình 2.20.



Hình 2.20. Đường cong biểu diễn mối quan hệ giữa nồng độ cơ chất và tốc độ phản ứng xúc tác bởi enzyme

Giá trị K_m thay đổi tùy loại enzyme và cơ chất cũng như phụ thuộc vào cơ chế phản ứng (như số lượng và tốc độ các bước trong phản ứng). Đối với phản ứng đơn giản sau:



K_m có thể được xác định bởi: $K_m = \dfrac{k_2 + k_{-1}}{k_1}$

Như vậy, khi bước xúc tác (k_2) chậm hơn nhiều so với sự phân ly của cơ chất khỏi enzyme (k_{-1}), $k_2 << k_{-1}$, thì K_m sẽ tương đương với K_d (hằng số phân ly của phức hợp enzyme - cơ chất):

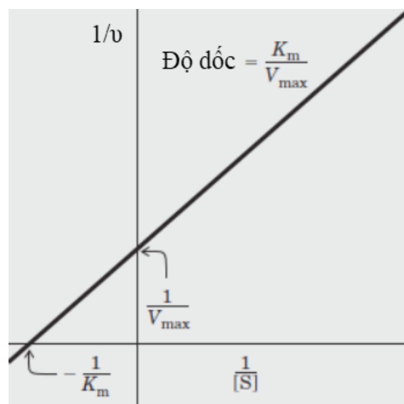
$$K_m \approx \frac{k_{-1}}{k_1} = K_d$$

Tuy nhiên, trường hợp này không áp dụng cho hầu hết enzyme và K_m không thể được coi một cách đơn giản là thước đo cho ái lực của cơ chất với enzyme.

Đồ thị dạng đường cong của phương trình Michaelis-Menten không thuận tiện trên thực tế để biểu diễn dữ liệu thực nghiệm. Do đó, một phép chuyển đổi đại số bằng cách lấy nghịch đảo hai vế của phương trình cho ra một cách biểu diễn khác, được gọi là phương trình Lineweaver-Burk:

$$\frac{1}{\upsilon} = \frac{K_m}{V_{max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

Như vậy, đồ thị của 1/υ so với 1/[S] là một đường thẳng (y = ax + b), với độ dốc (slope) là K_m/V_{max}, giao điểm với trục tung có giá trị $1/V_{max}$ và giao điểm với trục hoành có giá trị $-1/K_m$:



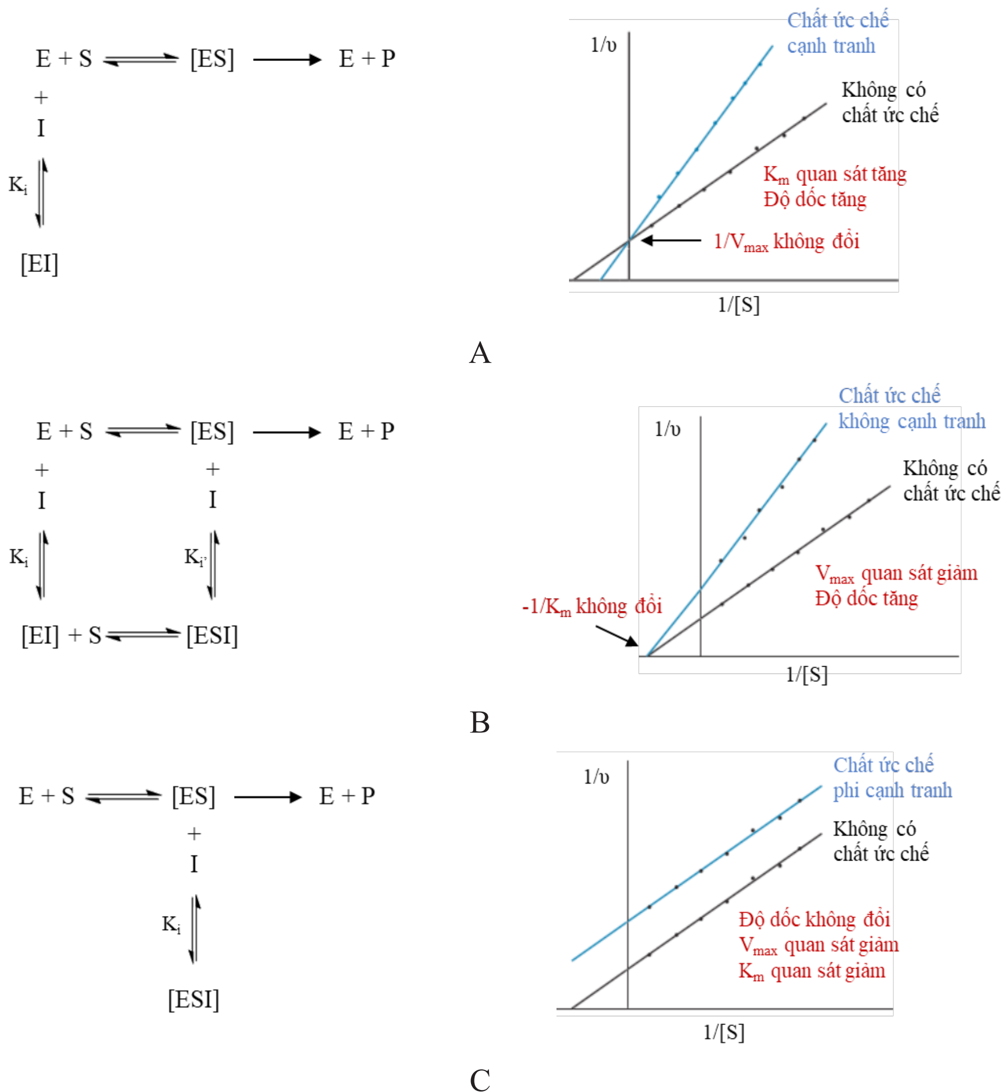
Hình 2.21. Đồ thị Lineweaver-Burk

Đồ thị Lineweaver-Burk có thể được sử dụng để xác định chất ức chế enzyme mang tính cạnh tranh, không cạnh tranh hay phi cạnh tranh.

Trong trường hợp ức chế cạnh tranh, cơ chất và chất ức chế cạnh tranh với nhau để liên kết tại cùng một vị trí trên enzyme. Như vậy, cơ chất ở nồng độ cao có thể làm dịch chuyển chất ức chế khỏi vị trí gắn kết. Do đó, V_{max} quan sát thấy (apparent) sẽ không đổi, hay nói cách khác giao điểm với trục tung trên đồ thị Lineweaver-Burk không đổi. Tuy nhiên, để đạt được V_{max}, cơ chất cần có nồng độ cao hơn, tức là K_m quan sát thấy sẽ tăng, hay độ dốc của đồ thị sẽ tăng (Hình 2.22A).

Đối với chất ức chế không cạnh tranh (noncompetitive), về lý thuyết, chất ức chế không ảnh hưởng đến sự cân bằng hình thành phức hợp enzyme - cơ chất (ES), do đó giá trị K_m quan sát thấy không đổi, hay giao điểm với trục hoành trên đồ thị không đổi. Tuy nhiên, chất ức chế làm giảm nồng độ phức hợp (ES) một khi được gắn kết để hình thành phức (ESI), và phức hợp này không thể tiếp tục quá trình xúc tác để tạo thành sản phẩm. Do đó, V_{max} giảm (Hình 2.22B).

Trong trường hợp chất ức chế phi cạnh tranh (uncompetitive), nghiên cứu động học enzyme cho thấy chất ức chế làm giảm giá trị quan sát thấy của cả K_m và V_{max}. Như vậy, độ dốc của đồ thị không đổi (Hình 2.22C).



Hình 2.22. Sơ đồ động học và đồ thị biểu diễn ảnh hưởng của chất ức chế:
A. Cạnh tranh, B. Không cạnh tranh, C. Phi cạnh tranh

K_i được gọi là hằng số ức chế (inhibition constant), hay là hằng số phân ly của phức hợp enzyme - chất ức chế ở trạng thái cân bằng (Hình 2.22). K_i có thể cho thấy hiệu lực của chất ức chế và có thể sử dụng để so sánh các chất ức chế (với cơ chế ức chế đã được xác định). Giá trị K_i càng bé, hiệu lực của chất ức chế càng mạnh.

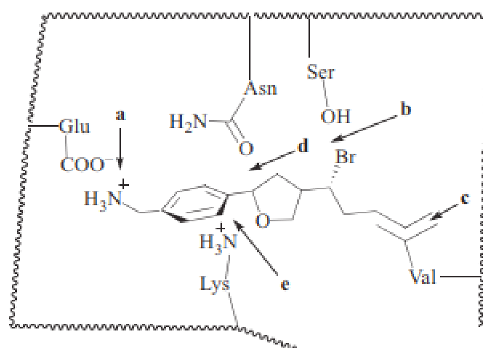
Ngoài ra, giá trị IC_{50} thường được sử dụng để so sánh các chất ức chế. Đây là nồng độ của chất ức chế cần thiết để giảm 50% hoạt động xúc tác của enzyme. Các hợp chất có IC_{50} cao có hiệu lực ức chế kém hơn so với hợp chất với IC_{50} thấp. Tuy nhiên, do IC_{50} không phải là thước đo trực tiếp của trạng thái cân bằng, giá trị này thường kém chính xác

hơn K_i. Đồng thời, giá trị này cũng phụ thuộc rất nhiều vào điều kiện thí nghiệm, cơ chế ức chế và nồng độ cơ chất của enzyme, do đó, cần thận trọng khi sử dụng IC_{50} để so sánh hiệu lực các chất ức chế [4].

Giá trị K_i và IC_{50} được xác định trong các phép thử sinh học trên enzyme cô lập. Tuy nhiên, khi nghiên cứu tác dụng trong tế bào hay mô, kết quả thu được là tác dụng tổng thể quá trình ức chế enzyme đối với tế bào (ức chế enzyme + các vai trò của enzyme trong tế bào). Khi đó, giá trị EC_{50} (nồng độ chất ức chế cần thiết để tạo ra 50% tác dụng trên tế bào) có thể được sử dụng.

Câu hỏi tự lượng giá

1. Cho biết những tương tác thuốc - thụ thể có thể hình thành tại các vị trí mũi tên trong hình sau (nhiều hơn một loại tương tác có thể cho mỗi vị trí):



2. Một số chất tương đồng dopamine được tổng hợp và thử tác dụng trên thụ thể D2. Kết quả được biểu diễn trong bảng sau:

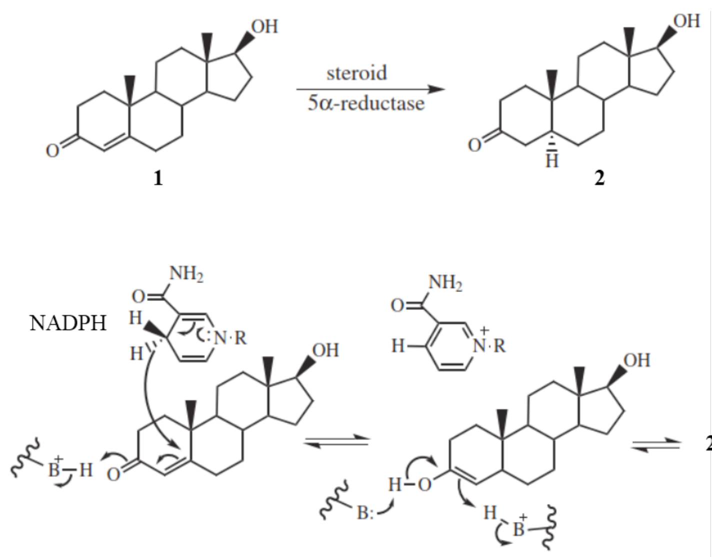
Chất	K_d (nM)	% thay đổi về hoạt tính nội tại	% thay đổi về hoạt tính khi thêm 100 µM dopamine
1	180	-12.1	-6.2
2	37	0.1	0.8
3	0.46	19	19
4	14.9	12.2	18.4
Dopamine	1.9	19	

a. So sánh ái lực của các hợp chất trên so với dopamine?

b. So sánh hiệu quả của các hợp chất so với dopamine?

c. Tác dụng nào được tạo ra bởi các hợp chất trên (chủ vận, đối vận,…)?

3. Sự dư thừa hormone androgen như testosterone (1) có thể gây ra phì đại tuyến tiền liệt. Tác dụng này có thể là do chất chuyển hóa của testosterone (2), được hình thành từ testosterone qua phản ứng xúc tác bởi steroid 5α-reductase. Cơ chế của phản ứng này được biểu diễn dưới đây. Finasteride (3) là một chất ức chế steroid 5α-reductase mạnh, với cơ chế được cho là ức chế dựa trên cơ chế (mechanism-based inhibitor). Đề nghị một cơ chế phản ứng giữa thuốc và enzyme theo cơ chế ức chế này.



Danh mục từ viết tắt

ACE: angiotensin-converting-enzyme

ADHD: attention deficit hyperactivity disorder

FRET: fluorescence energy resonance transfer method

GABA: gamma aminobutyric acid

IA: intrinsic activity

ITC: isothermal titration calorimetry

LBHB: low-barrier hydrogen bond

NRTI: nucleoside reverse transcriptase inhibitor

PD: pharmacodynamics

RBA: radioligand binding assay

SPR: surface plasmon resonance

Tài liệu tham khảo

1. Patrick GL. An introduction to medicinal chemistry. Fifth edition. Oxford: Oxford University Press; 2013. pp.789.
2. Silverman RB, Holladay MW. The organic chemistry of drug design and drug action. Third edition. Amsterdam ; Boston: Elsevier/AP, Academic Press, is an imprint of Elsevier; 2014. pp.517.
3. Foye WO, Lemke TL, Williams DA, editors. Foye's principles of medicinal chemistry. 7th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2013. pp.1500.
4. Stevens E. Medicinal chemistry: the modern drug discovery process. Boston: Pearson; 2014. pp.418. (Pearson advanced chemistry series).
5. Burlingham BT, Widlanski TS. An Intuitive Look at the Relationship of Ki and IC50: A More General Use for the Dixon Plot. J Chem Educ. 2003 Feb; 80(2):214.

Chương 3

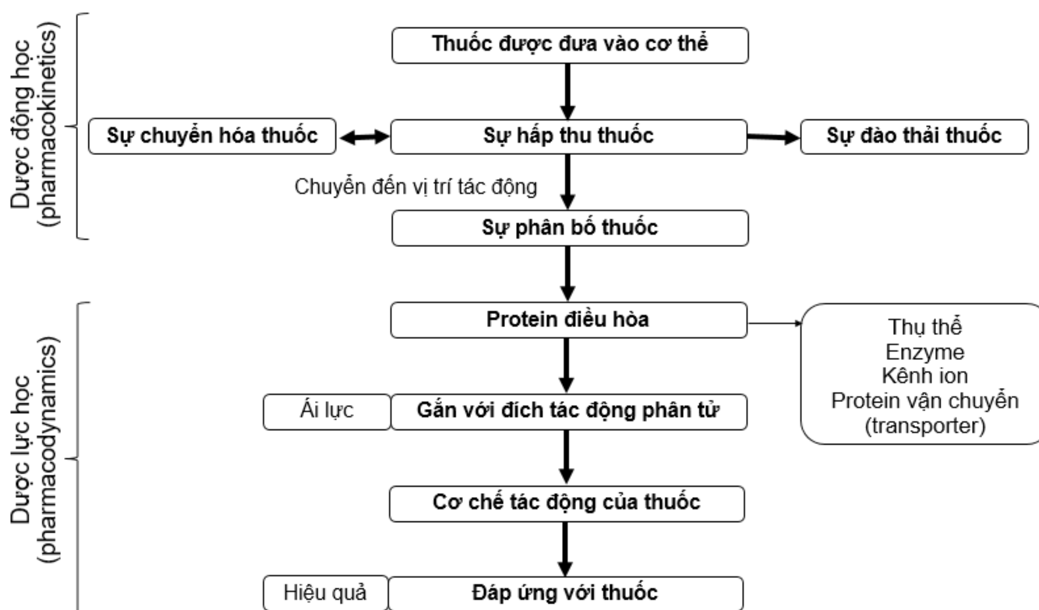
DƯỢC ĐỘNG HỌC

Lý Nguyễn Hải Du

1. ĐẠI CƯƠNG

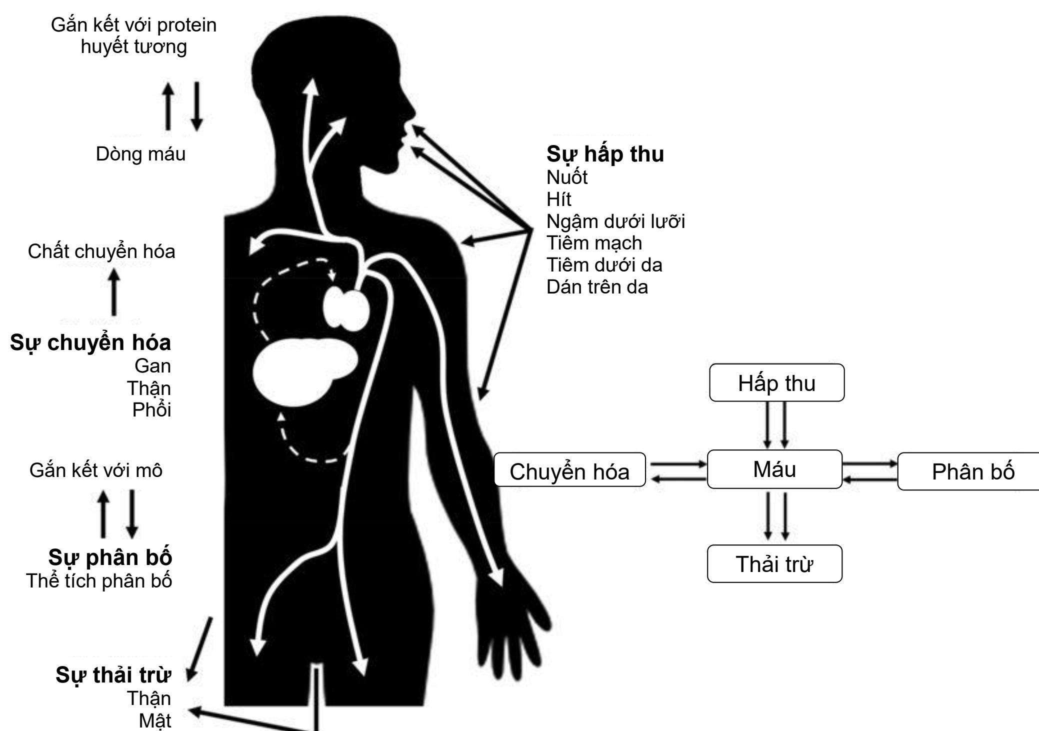
Dược lý là khoa học nghiên cứu tác động và hiệu lực của các phân tử thuốc trên các hệ sống cũng như tác động của hệ sống lên các phân tử thuốc [1]. Dược lý được chia thành hai phân ngành: **dược lực học (pharmacodynamics)** và **dược động học (pharmacokinetics)** (Hình 3.1).

Nguyên tắc của dược động học dựa trên triết lý của Paracelsus (nhà giả kim thời Trung Cổ) "liều lượng làm nên độc tính" [2]. Lợi ích điều trị chỉ đạt được khi nồng độ thuốc trong huyết tương nằm trong **cửa sổ điều trị (therapeutic window)** hay **khoảng trị liệu.** Khoảng trị liệu hẹp tương ứng với khoảng cách gần nhau của nồng độ tối thiểu có tác dụng và nồng độ tối thiểu gây độc, nên chỉ cần một sự biến thiên nhỏ của nồng độ thuốc trong huyết tương sẽ làm thuốc hoặc không có tác động, hoặc trở nên độc tính. Yếu tố quyết định để duy trì nồng độ thuốc trong huyết tương nằm trong khoảng trị liệu là **sinh khả dụng (bioavaibility),** và các yếu tố có thể ảnh hưởng đến sinh khả dụng là đối tượng nghiên cứu của dược động học [1].



Hình 3.1. Lược đồ mối liên hệ giữa dược động học và dược lực học

Để thuốc có được tác động, từ đường cho thuốc vào tĩnh mạch hoặc vào động mạch, các phân tử thuốc cần phải vượt qua ít nhất một màng sinh học (Hình 3.2). Từ vị trí cho thuốc để đi vào hệ tuần hoàn chung và để đến vị trí tác động, thuốc cần phải vượt qua các hàng rào vật lý, hóa học, hoặc sinh học. Một thuốc được vận chuyển qua một màng sinh học nhờ các cơ chế khác nhau, hoặc **vận chuyển thụ động** (không cần năng lượng) hoặc **vận chuyển chủ động** (cần năng lượng) [3].



Hình 3.2. Lược đồ dược động học và các khái niệm hấp thu, phân bố, chuyển hóa và thải trừ

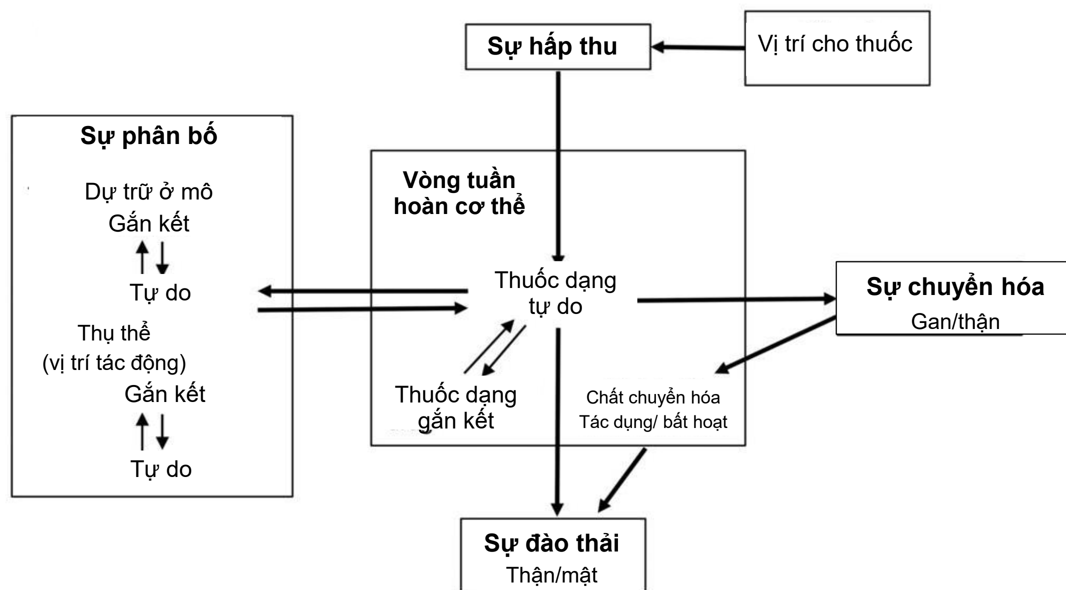
Các thuốc được **khuếch tán thụ động (passive diffusion)** qua màng tế bào cần có một độ thân dầu nhất định để vượt qua lớp phospholipid kép, sự khuếch tán xảy ra theo chiều gradient nồng độ đến khi đạt được sự cân bằng.

Một số thuốc vượt qua màng nhờ **sự khuếch tán thuận lợi (facilitated diffusion)** cũng không thể đi ngược chiều gradient nồng độ, và cần có một sự tương đồng nhất định với các ligand tự nhiên để có thể gắn vào chất mang đại phân tử (transporter), sau đó được vận chuyển qua màng.

Sự vận chuyển chủ động (active transportation) các thuốc qua màng cũng cần sự tương đồng của phân tử thuốc với các ligand tự nhiên để gắn với các chất mang đại

phân tử, quá trình này cần sử dụng năng lượng để vận chuyển phân tử thuốc ngược chiều gradient nồng độ.

Một số cơ chế vận chuyển thuốc xuyên màng khác có sử dụng các chất mang không đặc hiệu như P-glycoprotein. Ngoài ra sự ẩm bào cũng giúp cho sự nhập màng do bọc các phân tử thuốc trong các túi màng lipid kép. Sự vận chuyển qua các lỗ hoặc kênh ion giúp vận chuyển các phân tử thuốc nhỏ tan trong nước theo chiều gradient nồng độ.



Hình 3.3. Sơ đồ mối liên hệ giữa thuốc dạng tự do và gắn kết, con đường từ vị trí cho thuốc đến vị trí tác động

Đối tượng nghiên cứu của dược động học là sự hấp thu, phân bố, chuyển hóa và thải trừ của các thuốc, nói một cách khác là tác động của cơ thể lên thuốc (Hình 3.3). Dược động học cũng quan tâm đến độc tính liên quan của thuốc [1]. Phạm trù nghiên cứu của dược động học không giới hạn nghiên cứu sinh khả dụng trên các đối tượng khỏe mạnh mà còn mở rộng cả trong các tình trạng sinh lý và bệnh lý khác nhau, cũng như sự tương tác thuốc - thuốc, thuốc - thức ăn. Các khía cạnh này của dược động học hướng đến sự cá thể hóa chế độ liều dùng nhằm tối ưu hóa hiệu quả điều trị [4].

2. SỰ HẤP THU THUỐC (ABSORPTION)

Hấp thu là quá trình vận chuyển thuốc từ nơi cho thuốc vào vòng tuần hoàn cơ thể. Sự hấp thu và các yếu tố ảnh hưởng đến sự hấp thu sẽ ảnh hưởng đến sinh khả dụng của thuốc. Về mặt dược động học, **sinh khả dụng** thuốc được định nghĩa là tỷ lệ giữa phần thuốc đến vòng tuần hoàn cơ thể và phần thuốc được sử dụng [1].

Theo định nghĩa này, các thuốc được sử dụng theo đường tiêm tĩnh mạch hoặc động mạch có sinh khả dụng 100% do tất cả lượng thuốc đều vào đến tuần hoàn (giả định rằng tất cả thuốc vào đến tuần hoàn đều đến được đích tác động). Trường hợp thuốc cần phải được chuyển hóa trước khi thể hiện tác động có sinh khả dụng nhỏ hơn 100%, ngay cả với đường dùng là tiêm tĩnh mạch. Uống là đường dùng thuốc đơn giản và phổ biến nhất, nhưng lại có sinh khả dụng biến đổi nhất do có nhiều yếu tố ảnh hưởng đến sự hấp thu, như kích thước phân tử, tính tan trong lipid, độ ion hóa, dạng bào chế (ví dụ, viên nén hay dung dịch), bản chất hóa học của phân tử thuốc, sự tạo phức, tác động dược lực, nồng độ thuốc, lưu lượng máu (tại nơi cho thuốc), vị trí hấp thu và đường hấp thu (Bảng 3.1).

Bảng 3.1. Đặc tính của các đường cho thuốc khác nhau [1]

STT	Đường dùng	Ưu điểm	Nhược điểm
1	Đặt trong mũi - intranasal (ví dụ các thuốc kháng histamine)	Phóng thích nhanh, tác dụng tức thì Sinh khả dụng cao. Không chịu chuyển hóa lần đầu ở gan, và không bị ảnh hưởng bởi môi trường acid dịch vị	Kích ứng tại chỗ Giới hạn ở liều nhỏ và chỉ khả dụng với một số ít thuốc
2	Ngậm dưới lưỡi - sublingual (ví dụ nitroglycerin)	Phóng thích dễ dàng và thuận lợi Phóng thích nhanh, tác dụng tức thì Sinh khả dụng cao. Không chịu chuyển hóa lần đầu ở gan, và không bị ảnh hưởng bởi môi trường acid dịch vị Bệnh nhân (BN) có thể tự dùng thuốc	Sự hấp thu thay đổi nếu nuốt, nhai hoặc dùng sau khi nôn
3	Uống - oral/enteral (ví dụ captopril)	Sử dụng thuận lợi và dễ dàng, giá thành rẻ, không đau, không có nguy cơ bị nhiễm trùng BN có thể tự dùng thuốc	Bị chuyển hóa lần đầu/đào thải tại gan, gây giảm sinh khả dụng Phóng thích chậm và thời gian khởi phát tác động chậm Dạng bào chế cần phù hợp với đặc tính của thuốc trên ống tiêu hóa

STT	Đường dùng	Ưu điểm	Nhược điểm
			(ví dụ dạng bao tan trong ruột với các thuốc không bền với acid dịch vị hoặc gây kích ứng dạ dày) Nhiều yếu tố có thể ảnh hưởng đến sinh khả dụng (ví dụ nôn, tiêu chảy, táo bón)
4	Đặt trực tràng - rectal (ví dụ thuốc nhuận tràng)	Phóng thích nhanh, tác dụng tức thì Sinh khả dụng cao. Không chịu chuyển hóa lần đầu ở gan, không bị ảnh hưởng bởi môi trường acid dịch vị Phù hợp với BN bị nôn và các vấn đề khác với đường uống	Đường dùng gây khó chịu, nguy cơ nhiễm khuẩn huyết ở BN suy giảm miễn dịch Hấp thu thay đổi ở BN táo bón và tiêu chảy
5	Hít - inhalation (ví dụ albuterol)	Phóng thích nhanh, tác dụng tức thì Sinh khả dụng cao. Không chịu chuyển hóa lần đầu ở gan, không bị ảnh hưởng bởi môi trường acid dịch vị Phóng thích trực tiếp đến mô cần tác động BN có thể tự dùng thuốc	Kích ứng tại chỗ Giới hạn ở liều nhỏ và chỉ khả dụng với một số ít thuốc Có thể yêu cầu các dụng cụ đặc biệt, và hiệu quả giảm rõ rệt nếu sử dụng không đúng cách
6	Tiêm bắp - intramuscular (ví dụ morphine)	Thời gian khởi phát tác dụng trung bình Phù hợp với các thuốc dạng dầu Dễ cho thuốc hơn so với đường tiêm tĩnh mạch	Phù mạch tại chỗ, kích ứng hoặc đau Thời gian khởi phát tác dụng chậm Nguy cơ nhiễm trùng

STT	Đường dùng	Ưu điểm	Nhược điểm
7	Tiêm tĩnh mạch - intravenous (ví dụ furosemide)	Phóng thích nhanh và tác dụng tức thì Sinh khả dụng 100%. Không chịu chuyển hóa lần đầu ở gan, không bị ảnh hưởng bởi môi trường acid dịch vị Phóng thích thuốc có kiểm soát	Kích ứng hoặc đau Nguy cơ nhiễm trùng Dung dịch phải hòa tan tốt Nguy cơ thuyên tắc mạch Tác dụng không dễ bị đảo nghịch Độc tính nếu có khởi phát nhanh
8	Tiêm dưới da - subcutaneous (ví dụ insulin)	Hấp thu chậm hơn và khởi phát tác dụng chậm hơn Phù hợp với các thuốc dạng dầu	Phù mạch tại chỗ, kích ứng hoặc đau Thể tích thuốc nhỏ Thời gian khởi phát tác dụng chậm Nguy cơ nhiễm trùng
9	Dán trên da - transdermal (ví dụ fentanyl)	Sử dụng thuận lợi và dễ dàng, giá thành rẻ, Có thể phóng thích thuốc chậm và kéo dài Không chịu chuyển hóa lần đầu ở gan, không bị ảnh hưởng bởi môi trường acid dịch vị BN có thể tự dùng thuốc	Thời gian khởi phát tác dụng chậm Có thể xảy phản ứng tại chỗ trên da Các thuốc cần tan rất tốt trong dầu
10	Bôi trên da - percutaneous (ví dụ gel diclofenac)	Sử dụng thuận lợi và dễ dàng, giá thành rẻ Phù hợp cho tác dụng tại chỗ	Thời gian khởi phát tác dụng chậm Có thể xảy phản ứng tại chỗ trên da

Về cơ bản, các đường cho thuốc phổ biến có thể nhóm thành các đường chính gồm **đường uống, đường qua niêm mạc, đường tiêm** và **đường qua da** [1].

- Đường uống đơn giản, tiện dụng, ít đau, cho phép bệnh nhân tự thao tác và dạng thuốc dễ bảo quản và sử dụng. Thuốc được hấp thu qua dạ dày - ruột theo tĩnh mạch cửa

đến gan và trải qua chuyển hóa lần đầu (first-pass metabolism). Sự chuyển hóa lần đầu ở gan có thể làm thuốc bị mất tác dụng, làm giảm sinh khả dụng.

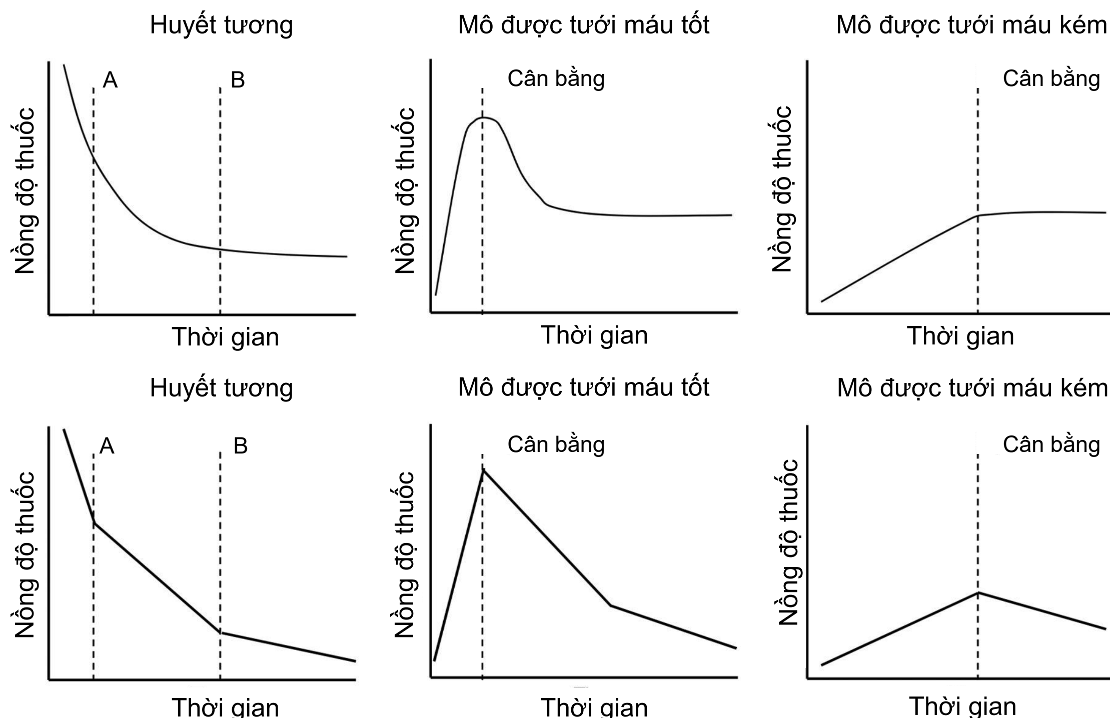
- Đường qua niêm mạc hạn chế thuốc bị ảnh hưởng bởi sự chuyển hóa lần đầu ở gan cũng như môi trường bất lợi ở ống tiêu hóa. Các niêm mạc có hệ thống mao mạch bao phủ rộng khắp, giúp cho sự hấp thu nhanh các phân tử thuốc vào hệ tuần hoàn cơ thể. Trong một số trường hợp, thuốc có thể được đưa trực tiếp đến vị trí tác động (ví dụ như phổi). Dạng bào chế cho đường dùng này khá đa dạng, có thể dạng hòa tan (thuốc đạn trực tràng hoặc phụ khoa), dạng phun mù (mist), khí dung (aerosol) hoặc dạng lỏng, được sử dụng ở nhiều vị trí như đặt dưới lưỡi (sublingual), mắt (ocular), phổi (pulmonary), mũi (intranasal), trực tràng (rectal) hoặc âm đạo (vaginal).

- Đường tiêm cũng hạn chế thuốc bị chuyển hóa lần đầu ở gan và giúp đưa thuốc nhanh chóng đến vị trí tác động. Mức độ bao phủ của mạch máu ảnh hưởng đến thời gian khởi phát tác động. Các đường tiêm mạch có thời gian khởi phát thay đổi: chậm với đường tiêm dưới da (subcutaneous), trung bình với đường tiêm bắp (intramuscular), và nhanh với đường tiêm tĩnh mạch (intravenous). Các đường tiêm gồm tiêm tĩnh mạch, tiêm động mạch (intraarterial), tiêm bắp, tiêm dưới da, tiêm phúc mạc (intraperitoneal) và tiêm trong nội tủy mạc (intrathecal) giúp kiểm soát hiệu quả sự phóng thích thuốc.

- Các đường đưa thuốc qua da (transdermal and percutaneous administration) cần sự khuếch tán thụ động của các thuốc tan tốt trong dầu qua hàng rào da. Đường đưa thuốc qua da có thời gian khởi phát tác động chậm, thuốc được phóng thích chậm và liên tục.

3. SỰ PHÂN BỐ THUỐC (DISTRIBUTION)

Sự phân bố thuốc tương ứng với sự dịch chuyển của thuốc từ vòng tuần hoàn cơ thể vào các mô [1]. Thuốc cần được phân bố đến vị trí tác động với một nồng độ nhất định để tạo được tác động điều trị. Sự phân bố thuốc cần vòng tuần hoàn cơ thể (và cả hệ bạch huyết ở một mức độ nhỏ hơn) để vận chuyển thuốc đến tất cả các mô, trừ não và tinh hoàn (do các hàng rào sinh học). Do đó, lưu lượng máu tương đối tại các mô sẽ ảnh hưởng đến liều sử dụng. Giả dụ sau khi tiêm tĩnh mạch có sự khuếch tán đơn giản xảy ra, thuốc ở nồng độ cao trong huyết tương sẽ nhanh chóng đạt cân bằng sau khi đi nhanh vào các tế bào có sự tưới máu mạnh. Các mô được tưới máu kém sẽ có sự tăng chậm nồng độ các thuốc, song song với sự giảm nồng độ thuốc trong huyết tương. Sau đó, nồng độ thuốc cao tại các mô được tưới máu tốt sẽ giảm dần thời gian để đạt được cân bằng qua các màng (Hình 3.4). Vì khó xác định được nồng độ thuốc tại các mô, nồng độ thuốc trong huyết tương được sử dụng để dự đoán nồng độ thuốc trong mô [4]. Nhiều yếu tố ảnh hưởng đến sự phân bố thuốc như tốc độ khuếch tán, ái lực của thuốc với các mô, lưu lượng máu (độ tưới máu) và sự gắn kết với protein huyết tương.

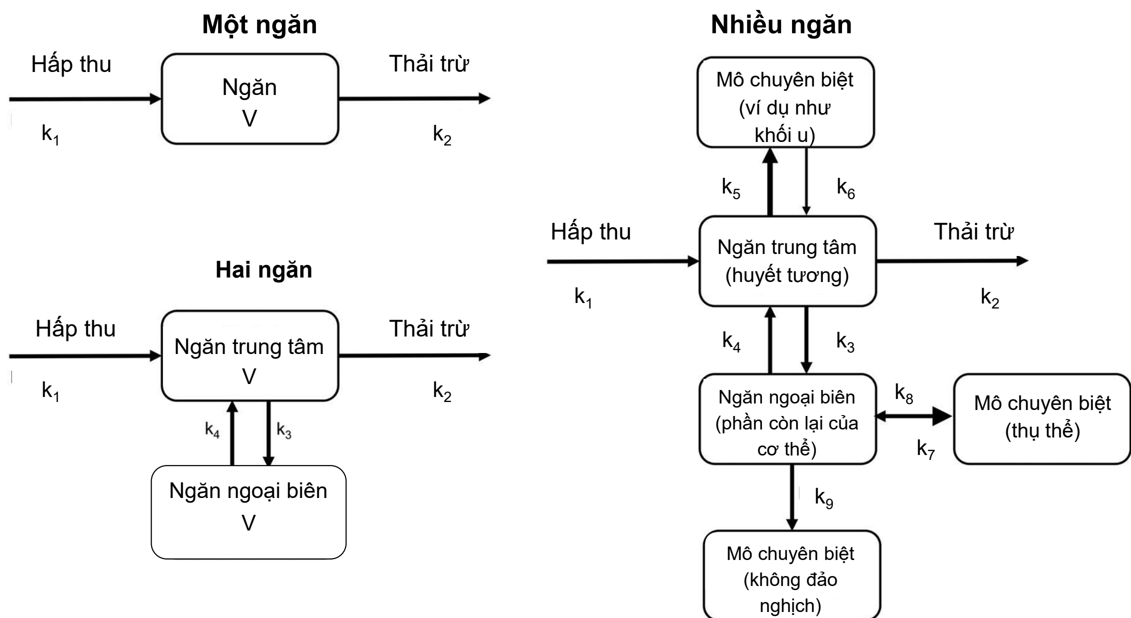


Hình 3.4. Lược đồ của trạng thái cân bằng giữa nồng độ thuốc trong huyết tương, mô tưới máu tốt và mô tưới máu kém. Ba lược đồ ở trên không tính đến tác động của quá trình chuyển hóa và thải trừ, chỉ minh họa sự cân bằng sớm tại mô tưới máu tốt (A), tiếp theo sau là giai đoạn cô đặc tại mô tưới máu kém (A đến B), trước theo đạt được cân bằng tại tất cả các mô và huyết tương (B). Ba lược đồ bên dưới biểu hiện các pha như các khoảng rời (đường thẳng) và minh họa tác động của sự đào thải.

Trong máu, các thuốc có một ái lực nhất định với các protein huyết tương, như albumin và các glycoprotein. **Sự gắn kết thuốc - protein huyết tương** (chủ yếu là albumin) thường không đặc hiệu. Thuốc trong phức hợp này không biểu hiện hoạt tính. Phức hợp thuốc - protein huyết tương thường là thuận nghịch và có vai trò như một bể dự trữ, phóng thích thuốc dần dần khi lượng thuốc tự do trong huyết tương giảm xuống (Hình 3.4) [3]. Các thuốc gắn kết nhiều với protein huyết tương có sự phóng thích từ từ thuốc dạng tự do, do đó có được tác dụng kéo dài theo thời gian. Tuy nhiên, sự cạnh tranh gắn kết với protein huyết tương có thể ảnh hưởng đáng kể đến tác dụng của thuốc. Khi hai thuốc cùng gắn kết với một loại protein huyết tương, thuốc có ái lực yếu hơn sẽ bị đẩy ra khỏi phức hợp thuốc - protein huyết tương, làm tăng nồng độ tự do trong máu và tại các mô, do đó có thể làm tăng tác dụng của thuốc. Ví dụ, aspirin có thể làm tăng tác dụng kháng đông của warfarin bởi cơ chế cạnh tranh gắn kết với protein huyết tương [3]. Một số ít thuốc tạo các phức hợp không đảo nghịch với protein huyết tương thông qua liên kết cộng hóa trị. Các phân tử thuốc này không được phóng thích khi có sự giảm nồng độ thuốc tự do trong huyết tương hay mô. Các thuốc được gắn kết nhiều với protein huyết tương thường có thể tích phân bố thấp [4].

Thể tích phân bố (Volume of distribution) là một khái niệm quan trọng trong các nguyên lý và tính toán dược động học, được tính bằng tỷ số giữa lượng thuốc trong cơ thể và nồng độ thuốc trong huyết tương. Đại lượng này thể hiện sự phân bố của thuốc trong huyết tương và các ngăn mô [1]. Thông thường, thể tích phân bố thực tế không bằng thể tích thực của các ngăn; giá trị này chỉ đơn giản là một mô hình giúp hiểu thuộc tính phân bố của một thuốc. Ví dụ, một người 70 kg được mong đợi sẽ có ít hơn 70 lít thể tích khắp cơ thể, nhưng thể tích phân bố cho một loại thuốc nhất định có thể vượt quá vài trăm lít. Thể tích vài trăm lít rõ ràng là không thể tồn tại ở một người 70 kg nhưng giúp hiểu được về thuộc tính của thuốc về mặt lý thuyết. Thể tích phân bố cao phản ánh nồng độ thuốc trong huyết tương tương đối thấp (nghĩa là liên kết với protein huyết tương tối thiểu) và sự phân bố rộng rãi vào các mô của cơ thể. Vì thế, giá trị này chỉ có tính biểu kiến, và là thể tích chất lỏng cần thiết để chứa tổng lượng thuốc trong cơ thể sao cho nồng độ thuốc tạo thành tương đương với nồng độ thuốc trong huyết tương [4].

Mô hình ngăn (compartmental model) được sử dụng trong dược động học và điều trị để đơn giản hóa sự hiểu biết về mối quan hệ giữa thuốc và sự phân bố của thuốc trong cơ thể. Cơ thể có thể được phân thành bốn ngăn chất lỏng chính: nước trong huyết tương (5%), nước trong dịch kẽ (16%), nước nội bào (35%) và nước trong mô mỡ (20%). Một ngăn thứ năm nhỏ hơn, nước xuyên tế bào (transcellular water - 2%), đôi khi được sử dụng và đại diện cho các ngăn được phân chia bởi một hàng rào như hàng rào máu não hoặc tinh hoàn [1]. Trong mỗi ngăn, thuốc có thể có ở dạng liên kết hoặc dạng tự do, và chỉ có dạng tự do có thể di chuyển từ ngăn này sang ngăn khác [1]. Chuyển động giữa các ngăn có thể được đo và biểu thị dưới dạng một hằng số tốc độ. Để đơn giản hóa, mô hình ngăn có thể phân thành một ngăn, hai ngăn hoặc nhiều ngăn (Hình 3.5).

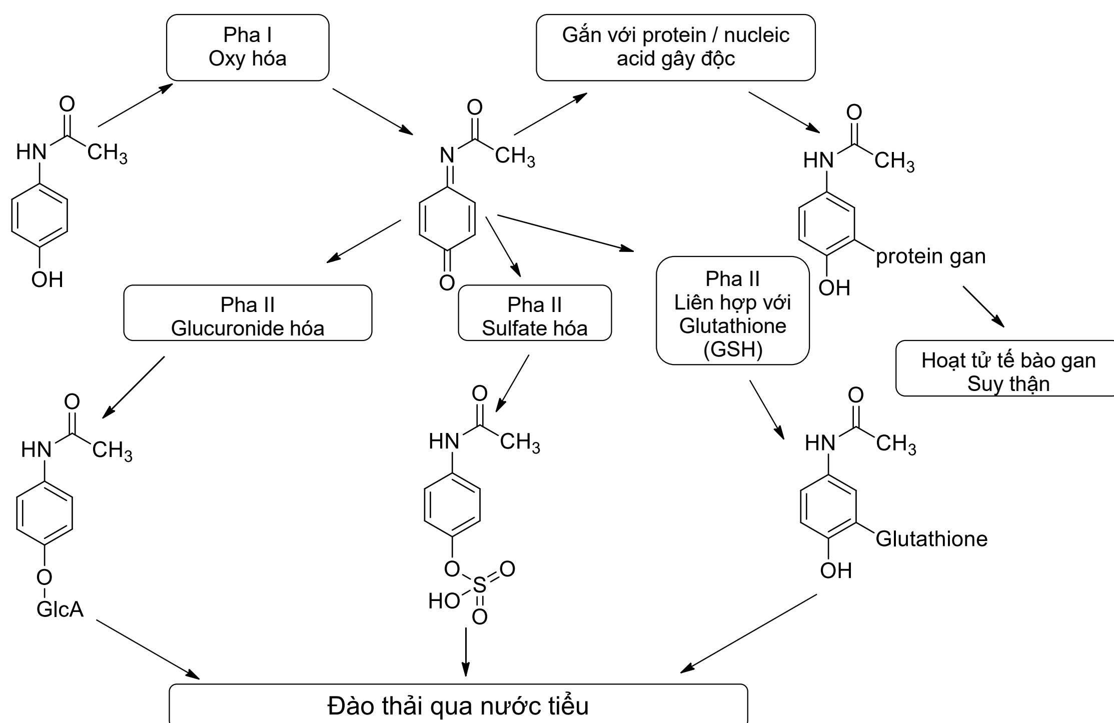


Hình 3.5. Lược đồ mô hình một ngăn, hai ngăn và nhiều ngăn. Hằng số tốc độ thải trừ phản ánh sự dịch chuyển từ một ngăn hoặc thể tích phân bố đến một ngăn khác có thể

được tính toán số học. Trong mô hình nhiều ngăn, k_5 và k_6 tương ứng với các mũi tên có kích thước khác nhau, cho thấy sự dịch chuyển đến mô đáng kể hơn sự dịch chuyển khỏi mô. Tương tự với k_7 và k_8, mũi tên hai đầu có kích thước mỗi đầu khác nhau cũng biểu thị giá trị tương đối của các giá trị k. Khi sự vận chuyển các thuốc giữa các ngăn là không thể đảo nghịch, mũi tên một chiều được sử dụng (k_9).

4. SỰ CHUYỂN HÓA THUỐC (METABOLISM)

Sự chuyển hóa thuốc phần lớn xảy ra ở gan nhưng cũng có thể xảy ra ở thận, phổi, da và đường tiêu hóa. Sự chuyển hóa thuốc được thực hiện bởi các enzyme biến đổi thuốc trong các tế bào khác nhau (ví dụ, đối với gan, trong tế bào gan) [4]. Đa phần các thuốc được bào chế để có thể hòa tan trong lipid nhằm vượt qua lớp màng phospholipid kép và phù hợp để hấp thu qua đường uống. Vì các thuốc tan được trong lipid sẽ được tái hấp thu từ nước tiểu trong quá trình thải trừ, các phân tử này cần được chuyển hóa thành các cấu trúc hòa tan trong nước để được thải trừ qua thận một cách hiệu quả (ví dụ, acetaminophen trong Hình 3.6) [3].



Hình 3.6. Sự chuyển hóa của acetaminophen (paracetamol). Sự oxy hóa ở pha I tạo thành chất chuyển hóa độc tính, sang pha II tạo thành 3 sản phẩm chuyển hóa được đào thải dễ dàng qua thận. Ở các bệnh nhân suy giảm chức năng gan có sự thiếu hụt glutathione, nguy cơ xảy ra độc tính cao, có thể dẫn đến hoại tử tế bào gan và suy giảm chức năng thận [5].

Sự chuyển hóa còn giúp chuyển các tiền dược thành dạng có hoạt tính (ví dụ: enalapril không có tác dụng được chuyển thành enalaprilat có tác dụng). Ngược lại, sự chuyển hóa có thể biến đối cấu trúc hóa học khiến thuốc giảm tác dụng (ví dụ: aspirin trở thành salicylic acid), mất tác dụng (ví dụ, morphine trở thành morphine-3-glucuronide không hoạt tính) [3,4]. Tuy nhiên, các chất chuyển hóa của thuốc có thể có hoạt tính riêng và trong một số trường hợp, các chất này có tác dụng mạnh hơn (ví dụ, nitroglycerin trở thành nitric oxide có tác dụng mạnh hơn).

Sự chuyển hóa các tiền dược và thuốc được xem là các biến đổi sinh học và có thể được phân loại thành **chuyển hóa pha I** hoặc **chuyển hóa pha II** [3,4].

- Chuyển hóa pha I - gồm các phản ứng oxy hóa, khử và thủy phân - có thể được gọi là giai đoạn tiền liên hợp (preconjugation).

- Chuyển hóa pha II - gồm các phản ứng liên hợp và thủy phân - thường tạo điều kiện thuận lợi để thuốc gắn vào các phân tử phân cực. Thuốc hoặc sản phẩm từ quá trình chuyển hóa ở pha I tạo liên kết cộng hóa trị với các chất nền. Một số ví dụ bao gồm sự glucuronide hóa, methyl hóa, acetyl hóa và sulfate hóa.

Hầu hết các thuốc đều trải qua cả pha I và pha II trong quá trình chuyển hóa; tuy nhiên, một số thuốc chỉ trải qua một trong hai pha [3].

5. SỰ ĐÀO THẢI THUỐC (ELIMINATION)

Tùy theo đặc tính lý hóa mà các thuốc được đào thải qua một số con đường khác nhau [3,4].

Các thuốc được đào thải dạng chất lỏng sẽ được thải trừ chủ yếu qua thận (nước tiểu) và qua gan (dịch mật), ngoài ra còn được thải trừ qua mồ hôi, nước mắt, nước bọt và sữa mẹ. Acetaminophen được đào thải chủ yếu qua thận, trong khi salicylic acid (một chất chuyển hóa của aspirin) có thể được bài tiết qua mồ hôi. Lidocaine được đào thải qua mật. Caffeine và theophylline (các chất chuyển hóa của tiền chất aminophylline) được bài tiết qua nước bọt. Mẫu nước tiểu và nước bọt của một người có thể được sử dụng để kiểm tra việc sử dụng ma túy.

Sự đào thải dạng rắn được thực hiện qua đường tiêu hóa (phân) và qua lông/tóc. Một số được thải trừ qua phân ở dạng nguyên vẹn do không được hấp thu, hoặc do thuốc được bài tiết qua mật vào ống tiêu hóa. Digoxin là một ví dụ về sự đào thải qua phân thông qua bài tiết của ruột kết. Thuốc thải trừ qua tóc có thể được tích hợp vào cấu trúc tóc (ví dụ: codeine hoặc morphine) hoặc tiết ra trên tóc bởi bã nhờn hoặc mồ hôi.

Các thuốc dễ bay hơi có thể được thải trừ qua khí trong phổi, ví dụ phổ biến nhất là ethanol.

Sự tái hấp thu thuốc trong quá trình đào thải: Các thuốc được lọc tại cầu thận có thể được tái hấp thu ở ống thận qua cơ chế tái hấp thu các chất dinh dưỡng quan trọng (ví dụ, amino acid và vitamin). Tương tự, thuốc thải trừ qua hệ thống mật cũng có thể được tái hấp thu trở lại từ ruột và trở lại tuần hoàn qua ngã tĩnh mạch cửa gan (chu trình gan - ruột) [3,4]. Cả hai trường hợp đều kéo dài thời gian có hiệu lực của thuốc.

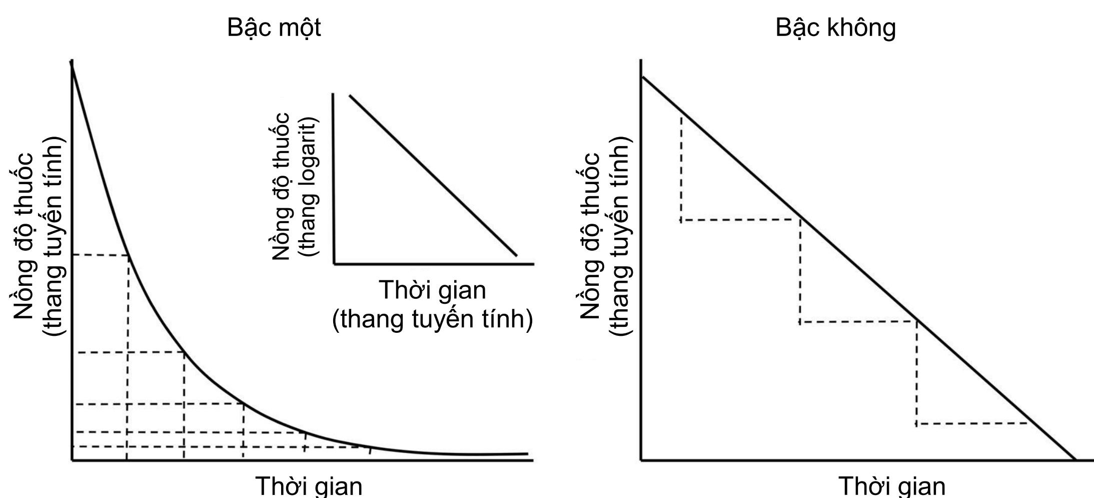
Sự đào thải thuốc khỏi huyết tương liên quan đến 4 khái niệm định lượng quan trọng [1-4].

Thứ nhất là **độ thanh thải thuốc (clearance).** Đại lượng này biểu thị tốc độ đào thải thuốc ra khỏi cơ thể, được tính bằng tích số của hằng số tốc độ thải trừ và thể tích phân bố.

Thứ hai là **thời gian bán thải $T_{1/2}$ (half clearance time)** - thời gian cần thiết để giảm 50% lượng thuốc hiện diện trong huyết tương hoặc trong toàn cơ thể.

Thứ ba, **động học bậc một (first-order kinetics)** là khi một tỷ lệ thuốc hằng định (cấp số nhân) được thải trừ trong một đơn vị thời gian (Hình 3.6), và tốc độ thải trừ phụ thuộc vào nồng độ thuốc trong huyết tương. Về lý thuyết, lượng thuốc trong cơ thể không bao giờ về giá trị không.

Thứ tư, **động học bậc không (zero-order kinetics),** là khi một lượng thuốc hằng định (tuyến tính) được thải trừ trong một đơn vị thời gian, và tốc độ thải trừ này không phụ thuộc vào nồng độ thuốc trong huyết tương. Không giống như động học bậc một, lượng thuốc hiện diện trong cơ thể sẽ trở về giá trị không (Hình 3.7).



Hình 3.7. Lược đồ sự đào thải theo động học bậc một và bậc không

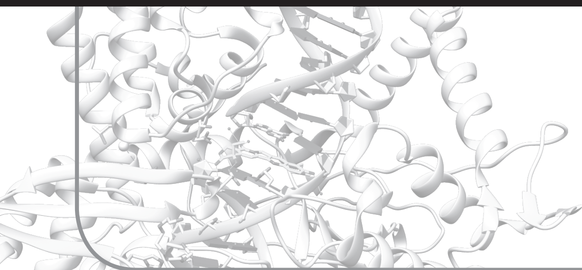
Câu hỏi tự lượng giá

1. Hãy cho biết các đối tượng nghiên cứu của dược động học?
2. Nêu sự khác biệt cơ bản của các phương thức vận chuyển thuốc qua các màng sinh học? Đường cho thuốc nào có sinh khả dụng cao nhất?
3. Nêu các yếu tố ảnh hưởng đến sự phân bố thuốc trong cơ thể? Hãy cho biết ý nghĩa của thể tích phân bố?
4. Sự chuyển hóa thuốc xảy ra ở các cơ quan nào trong cơ thể? Nêu bản chất của các phản ứng hóa học trong chuyển hóa thuốc pha I và pha II.
5. Thuốc có thể được thải trừ qua những con đường nào? Hãy cho biết sự khác biệt cơ bản giữa động học bậc một và động học bậc không?

Tài liệu tham khảo

1. Ritter J, Flower RJ, Henderson G, Loke YK, MacEwan DJ, Rang HP. Rand & Dale's Pharmacology. 9th ed. Edinburgh: Elseviser; 2020. Chapter 11, Pharmacokinetics; pp.143-151.
2. Ambhekar SS, Breen PJ. Basic Pharmacokinetics. 2nd ed. London, U.K.: Pharmaceutical Press; 2012.
3. Waller DG, Sampson AP. Medical Pharmacology and Therapeutics. 5th ed. London, U.K.: Elsevier; 2018.
4. Golan DE, Amstrong EJ, Amstrong AW. Principles of Pharmacology: The Pathophysiologic Basis of Drug Therapy. 4th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health; 2016.
5. Heard KJ. Acetylcysteine for acetaminophen poisoning. N Engl J Med. 2008 Jul; 359:285-292.

Chương 4



HÓA DƯỢC - THIẾT KẾ VÀ PHÁT TRIỂN THUỐC

Lâm Bảo Vy

1. GIỚI THIỆU CHUNG [1,2]

1.1. Một số khái niệm về Hóa dược

Hóa dược theo định nghĩa của IUPAC liên quan đến quá trình khám phá, phát triển, xác định và giải thích cơ chế tác động của các chất có tác dụng sinh học ở mức độ phân tử. Thuốc là trọng tâm nghiên cứu của ngành, tuy nhiên Hóa dược quan tâm đến các chất có hoạt tính sinh học nói chung. Hoá dược còn liên quan đến nghiên cứu, xác định và tổng hợp các chất chuyển hóa và dẫn chất của thuốc.

Như vậy, mục tiêu của Hóa dược là khám phá, phát triển và cải thiện các hợp chất dùng làm thuốc nhằm chữa hoặc giảm nhẹ bệnh, đồng thời tìm hiểu nguyên nhân và các quá trình hóa học liên quan.

Hóa dược hiện đại và thiết kế thuốc hợp lý (so với phương pháp thực nghiệm trong lịch sử) là ngành khoa học đa lĩnh vực bao gồm hóa hữu cơ và các ngành khoa học về sự sống khác như sinh hóa, dược lý, sinh học phân tử, di truyền, miễn dịch, dược động học, độc chất học, cùng với các lĩnh vực dựa trên hóa học như lý hóa, tinh thể học, phổ học, và các kỹ thuật máy tính như mô phỏng, phân tích dữ liệu.

1.2. Các giai đoạn khám phá và phát triển thuốc

Các giai đoạn điển hình của quá trình khám phá và phát triển thuốc hợp lý được minh họa trong Hình 4.1 và được tóm tắt dưới đây. Từ phác thảo này, có thể thấy việc tìm kiếm các tác nhân trị liệu mới là một nhiệm vụ phức tạp:

- Khám phá đích tác động của thuốc bao gồm xác định và xác nhận các đích tác động liên quan đến bệnh (xem Chương 1). Hai chiến lược chính được sử dụng bao gồm: (1) phương pháp tiếp cận ở mức độ phân tử, tập trung vào tế bào hay thành phần của tế bào liên quan đến bệnh và sử dụng các mẫu lâm sàng và mô hình tế bào; (2) phương pháp tiếp cận hệ thống dựa trên việc khám phá đích tác động thông qua nghiên cứu bệnh trên toàn bộ cơ thể.
- Trước hoặc sau khi xác định đích tác động, thành lập nhóm nghiên cứu, lựa chọn phương pháp tiếp cận có triển vọng và quyết định về ngân sách. Tổng hợp hóa học

có thể bắt đầu dựa trên hóa chất sẵn có, thư viện hóa chất nội bộ hay từ các chất có nguồn gốc tự nhiên. Điểm khởi đầu về dược lý bao gồm lựa chọn các phương pháp sàng lọc (screening) phù hợp và các phương pháp thử hoạt tính sinh học.

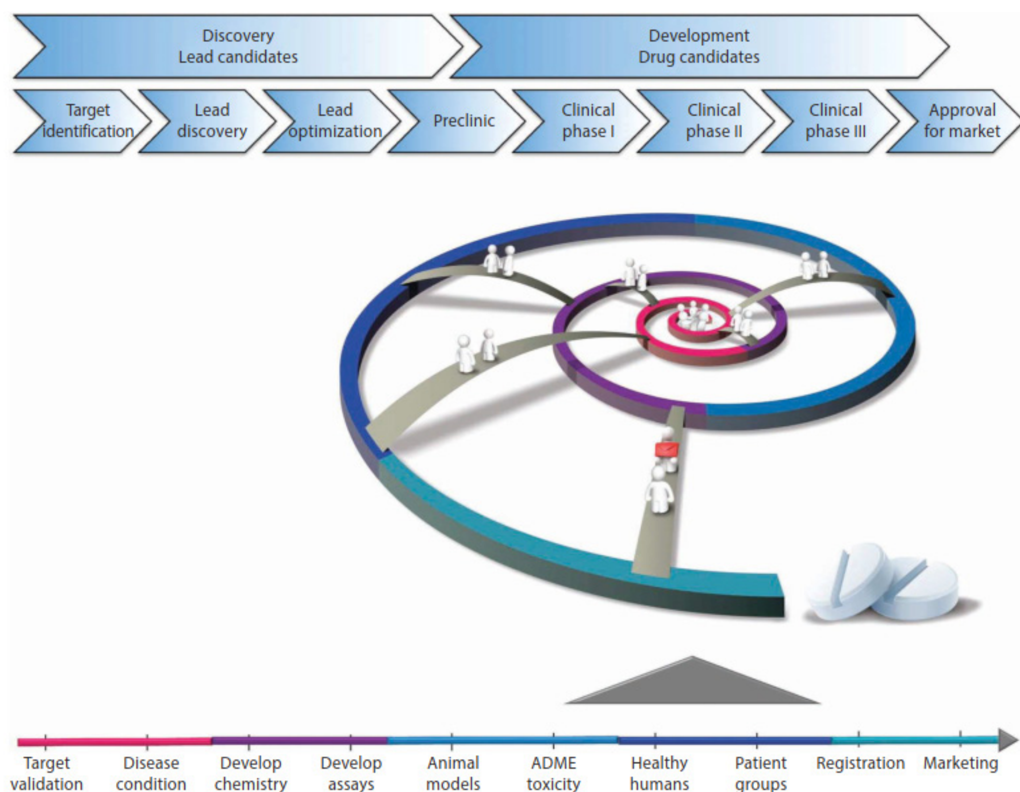
- Khám phá và tổng hợp các hợp chất mới có tiềm năng tương tác với đích tác động đã chọn hay khám phá chất khởi nguồn (lead discovery).
- Tối ưu hóa chất khởi nguồn (lead optimization) tập trung vào cải thiện hoạt tính, tính chọn lọc, giảm độc tính. Thiết lập quan hệ cấu trúc - tác dụng, nghiên cứu cơ chế tác dụng và các đặc điểm dược động học (ADME) cũng là các trọng tâm của bước phát triển này. Đồng thời, nghiên cứu về dạng bào chế và đăng ký bảo hộ sáng chế cũng được bắt đầu.

Hóa dược đóng vai trò thiết yếu trong giai đoạn khám phá trên (thường kéo dài khoảng 4-5 năm), đặc biệt trong việc xác định và tối ưu hóa chất khởi nguồn. Tiếp theo là bước phát triển thuốc bao gồm các giai đoạn tiền lâm sàng, nghiên cứu lâm sàng và đưa ra thị trường, đòi hỏi nhiều thời gian và nguồn lực (thường kéo dài 6-10 năm):

- Giai đoạn tiền lâm sàng: phát triển quy trình tổng hợp chất trên quy mô lớn (nhiều kilogram); phát triển dạng bào chế (trong hầu hết các trường hợp là dung dịch hoặc hỗn dịch có thể dùng cho động vật trong thử nghiệm độc tính và là dung dịch, hỗn dịch hoặc thuốc viên có thể dùng cho người trong thử nghiệm lâm sàng); thử nghiệm độc tính trên động vật; đạt được sự cho phép của các cơ quan quản lý để sử dụng trên người.
- Thử nghiệm lâm sàng pha 0: còn được gọi là nghiên cứu về liều lượng vi mô trên người do FDA quy định từ năm 2006 cho các thử nghiệm thăm dò không bắt buộc trên người. Chúng được thiết kế nhằm tăng tốc độ phát triển của các loại thuốc hay tác nhân dùng trong chẩn đoán hình ảnh có triển vọng từ nghiên cứu tiền lâm sàng trên động vật. Một liều duy nhất thấp hơn liều điều trị của thuốc được sử dụng cho khoảng 10-15 đối tượng khỏe mạnh nhằm thu thập dữ liệu sơ bộ về dược động học trên người, cho phép xếp hạng các chất có tiềm năng và hầu như không có nguy cơ có tác dụng phụ.
- Thử nghiệm lâm sàng pha I: đánh giá tính an toàn, khả năng dung nạp (liều lượng và tác dụng phụ), đặc tính dược động học và tác dụng dược lý của thuốc trên khoảng 20-100 người. Các đối tượng này thường là tình nguyện viên khỏe mạnh, tuy nhiên bệnh nhân với bệnh đe dọa đến tính mạng có thể tham gia. Mục tiêu chính của giai đoạn này là so sánh kết quả của các nghiên cứu về độc tính trên động vật (bao gồm nồng độ thuốc trong máu và trong các mô khác nhau) so với ở người nhằm thiết lập mức độ liên quan với các nghiên cứu trên động vật. Pha I thường kéo dài vài tháng đến khoảng một năm rưỡi.
- Thử nghiệm lâm sàng pha II: đánh giá hiệu quả của thuốc, xác định tác dụng phụ và tính an toàn, xác định liều điều trị trên vài trăm bệnh nhân. Nghiên cứu này thường

cho phép ước lượng ban đầu về hiệu quả của thuốc nhưng do quy mô hạn chế và một số yếu tố khác, không được coi là có tính quyết định trong việc xác định hiệu quả của thuốc. Pha II thường kéo dài 1-3 năm.

- Thử nghiệm lâm sàng pha III: thường là nghiên cứu với quy mô lớn hơn trên vài ngàn bệnh nhân nhằm xác định hiệu quả của thuốc, theo dõi các tác dụng phụ khi sử dụng thuốc lâu dài và có thể so sánh với các thuốc tương tự đã có trên thị trường. Thử nghiệm này bao gồm các nhóm kiểm soát (control group) phù hợp để có thể đưa ra kết luận mang tính thống kê về hiệu quả của thuốc. Pha III thường cần 2-6 năm để hoàn tất.
- Xin giấy phép lưu hành thuốc theo quy định của các cơ quan quản lý.
- Đưa thuốc ra thị trường và giám sát lâm sàng pha IV để xác định tính an toàn và khả năng dung nạp của thuốc trên diện rộng và về lâu dài vì lúc này thuốc có thể được sử dụng trên hàng trăm ngàn hay hàng triệu bệnh nhân. Các tác dụng phụ có hại phát hiện trong giai đoạn này có thể dẫn đến việc thu hồi hoặc hạn chế sử dụng thuốc.



Hình 4.1. Phác thảo các giai đoạn điển hình của quá trình khám phá và phát triển thuốc [2]

2. XÁC ĐỊNH CHẤT KHỞI NGUỒN (lead compound) [1,3]

Tìm kiếm và xác định chất khởi nguồn (lead compound) thích hợp, có triển vọng thường là điểm khởi đầu cho quá trình khám phá, thiết kế tác nhân trị liệu mới trong Hóa dược hiện đại, và thường bắt đầu bằng việc tìm kiếm các "hit".

"Hit" là chất có hoạt tính trên đích tác động và đáp ứng các tiêu chí sau: (1) hoạt tính có tính lập lại trong các phép thử sinh học, (2) có cấu trúc xác định và độ tinh khiết cao, (3) chọn lọc trên đích tác động, (4) mang đặc điểm cấu trúc mới và (5) quá trình tổng hợp hóa học mang tính khả thi. Sau đó, tác dụng dược lý của "hit" cần phải được xác thực (hit validation) để có thể trở thành chất khởi nguồn. Thông thường, chất khởi nguồn cần đạt các yêu cầu sau: (1) có hoạt tính *in vitro* và có thể có hoạt tính *in vivo*, (2) không có độc tính liên quan đến hERG, (3) các dẫn chất thể hiện mối liên quan cấu trúc - tác dụng (SAR) rõ ràng, (4) các đặc tính hóa lý và ADME cơ bản cần được đánh giá để xác định các đặc điểm không mong muốn tiềm ẩn và đánh giá mối quan hệ cấu trúc - đặc tính của chất, (5) không chứa các nhóm chức dễ dàng phản ứng hóa học và (6) có thể đăng ký bảo hộ sáng chế.

2.1. Nguồn gốc của "hit" và chất khởi nguồn

Các nguồn và chiến lược tìm kiếm "hit" và chất khởi nguồn thường được sử dụng trong quá trình khám phá thuốc mới được giới thiệu sau đây:

2.1.1. Phối tử nội sinh (endogenous ligands)

Phối tử (ligand) được hiểu là chất có thể gắn kết với một phân tử sinh học trong cơ thể (thụ thể, enzyme, nucleic acid,…) để tạo ra hiệu ứng sinh học. Phối tử nội sinh là các chất được sản xuất bởi chính cơ thể (các chất dẫn truyền thần kinh, hormone, cơ chất của enzyme,…).

Nhiều bệnh, hoặc ít nhất là triệu chứng của bệnh, phát sinh từ sự mất cân bằng (thừa hoặc thiếu) của một chất hóa học cụ thể trong cơ thể, có thể do sự xâm nhập của một sinh vật lạ hoặc do sự phát triển không bình thường của tế bào. Ảnh hưởng của sự mất cân bằng này có thể được điều chỉnh bằng cách sử dụng chất đối vận hay chủ vận của thụ thể, ức chế một enzyme cụ thể (xem Chương 2), hay can thiệp vào quá trình sinh tổng hợp và chức năng của nucleic acid. Một khi cơ chế sinh hóa liên quan đến bệnh được xác định, các phối tử nội sinh của thụ thể hay cơ chất của enzyme có thể là chất khởi nguồn cho quá trình thiết kế thuốc. Các thuốc được phát triển từ nguồn này sẽ được thảo luận cụ thể hơn trong phần II của sách. Bảng 4.1 trình bày một số ví dụ về thuốc được thiết kế từ cấu trúc của phối tử nội sinh.

Bảng 4.1. Một số ví dụ về phối tử nội sinh là chất khởi nguồn cho quá trình phát triển thuốc

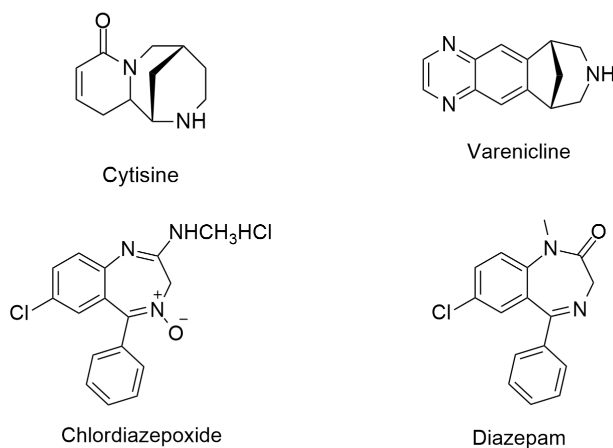
Phối tử nội sinh	Thuốc
Serotonin	Frovatriptan (chống đau nửa đầu)
Acetylcholine	Cevemeline (trị khô miệng)
Norepinephrine	Nebivolol (trị cao huyết áp)
Progesterone	Norgestrel (thuốc tránh thai)
ATP	Gefitinib (chống ung thư)

2.1.2. Phối tử được biết khác

Ngoài phối tử nội sinh, các chất có tương tác với đích tác động liên quan đến bệnh được biết có thể là chất khởi nguồn cho quá trình khám phá thuốc mới. Một ví dụ cho trường hợp này là sử dụng alkaloid cytisine, được biết là có tương tác với thụ thể nicotinic, làm điểm khởi đầu cho phát triển thuốc giúp cai thuốc lá varenicline (Hình 4.2).

Một cách tiếp cận khác là sử dụng thuốc đã được phát triển như chất khởi nguồn cho các thuốc thế hệ tiếp theo. Ví dụ như diazepam bắt nguồn từ chlordiazepoxide (Librium), một thuốc đã có mặt trên thị trường, với hoạt tính mạnh hơn gần 10 lần so với chlordiazepoxide (Hình 4.2).

Ngoài ra, các thuốc đã biết (vẫn đang có mặt trên thị trường hay không còn được sử dụng) có thể được tái sử dụng (repurpose) hay còn được gọi là tái định vị (reposition), nghĩa là được phát triển cho một chỉ định hoàn toàn mới. Lợi thế của việc tái sử dụng thuốc là giảm chi phí đưa thuốc ra thị trường vì tính an toàn và các đặc tính dược động học của thuốc đã được đánh giá trong chỉ định ban đầu. Một ví dụ là thuốc chống trầm cảm duloxetine được phê duyệt để điều trị đau thắt lưng mạn tính.



Hình 4.2. Một số ví dụ về chất khởi nguồn là các phối tử đã biết

2.1.3. Sàng lọc chất (Screening of compounds)

Trong nhiều trường hợp, các chất có thể tương tác với đích tác động liên quan đến bệnh chưa được phát hiện hoặc ngược lại, các phối tử được biết cho một đích tác động cụ thể không mang các đặc tính mong muốn để có thể dùng làm chất khởi nguồn. Ví dụ như nhiều phối tử nội sinh là các protein có kích thước lớn và thường không được xem là điểm khởi đầu thích hợp cho mục tiêu thiết kế thuốc có thể dùng đường uống. Vì những lý do này, việc sàng lọc chất để tìm ra chất khởi nguồn đóng vai trò quan trọng trong phát triển thuốc từ nhiều thập kỷ nay, và những tiến bộ công nghệ trong 20 năm qua mang đến những thay đổi đáng kể trong các phương pháp sàng lọc này.

Yêu cầu đầu tiên cho việc sàng lọc là cần có phương pháp thử sinh học thích hợp để đánh giá hoạt tính của chất. Hiện nay, quá trình sàng lọc chủ yếu được thực hiện *in vitro* (thử nghiệm gắn kết, ức chế enzyme, đo hoạt tính trên cơ quan cô lập hoặc nuôi cấy tế bào,…) so với *in vivo* (sàng lọc trên mô hình động vật,…) do chỉ cần một lượng nhỏ chất cho thử nghiệm và không bị ảnh hưởng bởi các yếu tố dược động học. Một khi hoạt tính sinh học của chất được đánh giá, các nghiên cứu về dược động học sẽ được thực hiện sau đó. Đồng thời, sàng lọc thông lượng cao (High-throughput screening - HTS), sử dụng các phép thử *in vitro* nhanh chóng với độ nhạy cao và có thể được thực hiện bằng robot, cho phép đánh giá hoạt tính của một số lượng chất đáng kể, hiện nay trở thành trọng tâm của phương pháp sàng lọc trong quá trình khám phá thuốc mới.

Một mục tiêu quan trọng trong sàng lọc thông lượng cao trên các đích tác động khác nhau là cần có một thư viện các hợp chất đa dạng về cấu trúc, dựa trên giả định rằng các chất có cấu trúc tương tự sẽ có hoạt tính sinh học tương tự và ngược lại, sự đa dạng về cấu trúc có thể cho các hoạt tính khác nhau. Tuy nhiên, điều này không mang tính tuyệt đối trong mọi trường hợp. Nguồn các hợp chất sử dụng để sàng lọc có thể đến từ:

- Các hợp chất tự nhiên: từ thực vật, sinh vật biển, vi khuẩn, nấm,… Bên cạnh sự đa dạng và độc đáo về cấu trúc, các hợp chất tự nhiên thường có khả năng vượt qua màng sinh học và thâm nhập vào tế bào, đồng thời thường mang các đặc tính dược động học mong muốn, do đó thường là chất khởi nguồn tiềm năng cho quá trình phát triển thuốc. Thật vậy, gần một nửa các thuốc được phê duyệt từ năm 1994 đến 2007 và hơn 60% thuốc chống ung thư và nhiễm trùng trên thị trường từ 1981 đến 2006 có nguồn gốc từ các hợp chất tự nhiên (Bảng 4.2).
- Thư viện các hợp chất tổng hợp: các chất được tổng hợp trong quá trình khám phá và phát triển thuốc của nhiều công ty dược phẩm hay các nhóm nghiên cứu khoa học. Một ưu điểm khi sử dụng các chất này cho sàng lọc là thường có khả năng mang hoạt tính sinh học và các đặc tính mong muốn để làm thuốc (drug-like properties). Tuy nhiên, một điểm bất lợi là cấu trúc của các hợp chất này được thiết kế cho các đích tác động nhắm đến nhất định do đó hạn chế về tính đa dạng.
- Tổng hợp hóa học thông lượng cao (High-throughput organic synthesis - HTOS): dựa trên các phương pháp tổng hợp hóa học nhằm điều chế một số lượng lớn (hàng ngàn) các hợp chất cho sàng lọc. Phương pháp này khởi nguồn từ các kỹ thuật tổng hợp pha rắn (solid-phase synthesis), là quá trình tổng hợp hóa học thực hiện trên chất hỗ trợ polymer, giúp loại bỏ chất phản ứng thừa và sản phẩm phụ dễ dàng hơn, thường sử dụng phương pháp tổng hợp song song (parallel synthesis) và hóa học tổ hợp (combinatorial chemistry). Mặc dù tổng hợp pha rắn cho phép tạo ra một số lượng đáng kể chất cho sàng lọc, các hạn chế về độ tinh khiết cũng như tính đa dạng về cấu trúc và khả năng tổng hợp trên quy mô lớn là những nhược điểm chủ yếu, khiến kỹ thuật này càng ngày càng ít được sử dụng. Hiện nay, tổng hợp thông lượng cao thường được áp dụng cho tổng hợp trong dung dịch (solution-phase synthesis), cho phép điều chế các hợp chất trên quy mô lớn hơn với độ tinh khiết cao cũng như có thể sử dụng nhiều điều kiện phản ứng hơn.

Bảng 4.2. Một số ví dụ về chất khởi nguồn là hợp chất tự nhiên

Hợp chất tự nhiên	**Thuốc**
Echinocandin B (chất chuyển hóa của nấm)	Anidulafungin (thuốc kháng nấm)
Epothilone B (từ lên men vi khuẩn)	Ixabepilone (chống ung thư)

2.1.4. Khám phá chất khởi nguồn dựa trên phân mảnh (Fragment-based lead discovery-FBLD)

Mặc dù mang lại một số thành công nhất định, sàng lọc thông lượng cao (HTS) vẫn chưa hoàn toàn đạt kỳ vọng chính là đưa thuốc nhanh chóng ra thị trường do có một số hạn chế cơ bản. Thứ nhất, một chiến dịch HTS điển hình sử dụng khoảng 10^5-10^6 hợp chất, ít hơn nhiều so với không gian hóa học tiềm năng (chemical diversity space), ước tính khoảng 10^{60} phân tử chứa ≤ 30 nguyên tử không phải là hydrogen. Thứ hai, các thư viện hợp chất thường bao gồm các chất mang các đặc tính có thể dùng làm thuốc (drug-like) hơn là các đặc tính có thể dùng làm chất khởi nguồn (lead-like), ví dụ như có khối lượng phân tử tương đối cao (trung bình là 400 Da) và có tính thân dầu cao, làm hạn chế khả năng tối ưu hóa. Cuối cùng, đối với nhiều đích tác động, các thư viện chất này không chứa các hợp chất thích hợp để sàng lọc hay tỷ lệ tìm ra "hit" sẽ rất thấp.

Mặt khác, Hann và cộng sự cho thấy rằng khi kích thước và độ phức tạp của phối tử càng cao, tương tác giữa phối tử - thụ thể càng giảm theo cấp số nhân, gợi ý rằng xác suất gắn kết với thụ thể của các phân tử nhỏ, đơn giản (mặc dù với ái lực thấp hơn) cao hơn nhiều so với các chất thường dùng cho HTS [5]. Đồng thời, một khái niệm khác nhằm

đánh giá "hit", gọi là hiệu suất phối tử (ligand efficiency - LE), không chỉ xem xét hiệu lực của chất (potency) trong sàng lọc mà còn tính đến khối lượng phân tử và do đó cho thấy một khía cạnh khác trong chiến lược tìm kiếm chất khởi nguồn. LE được định nghĩa là năng lượng liên kết trên mỗi nguyên tử của phối tử:

$$LE = \Delta G/N$$

Với $\Delta G = -RT(\ln K_d)$ và N là số nguyên tử không phải là hydrogen trong phối tử, R là hằng số khí, T là nhiệt độ tuyệt đối, K_d là hằng số phân ly của phối tử khỏi thụ thể.

Như vậy, một phối tử nhỏ với hiệu lực trung bình có thể có LE cao hơn so với một phối tử có hoạt tính mạnh nhưng với kích thước lớn hơn đáng kể. Theo đó, LE là một phương pháp bình thường hóa (normalize) hiệu lực trên đích tác động (dược lực học) và kích thước phân tử (một yếu tố đóng góp vào dược động học) (xem thêm Chương 2 và Chương 3), do đó có ích cho việc so sánh các hợp chất với hiệu lực và khối lượng phân tử khác nhau. ΔG trong phương trình có thể được thay thế bằng pK_i hay pIC_{50} và N có thể được thay thế bằng ClogP, khối lượng phân tử hay TPSA nhằm bình thường hóa hiệu lực so với các thông số quan trọng khác liên quan đến dược động học.

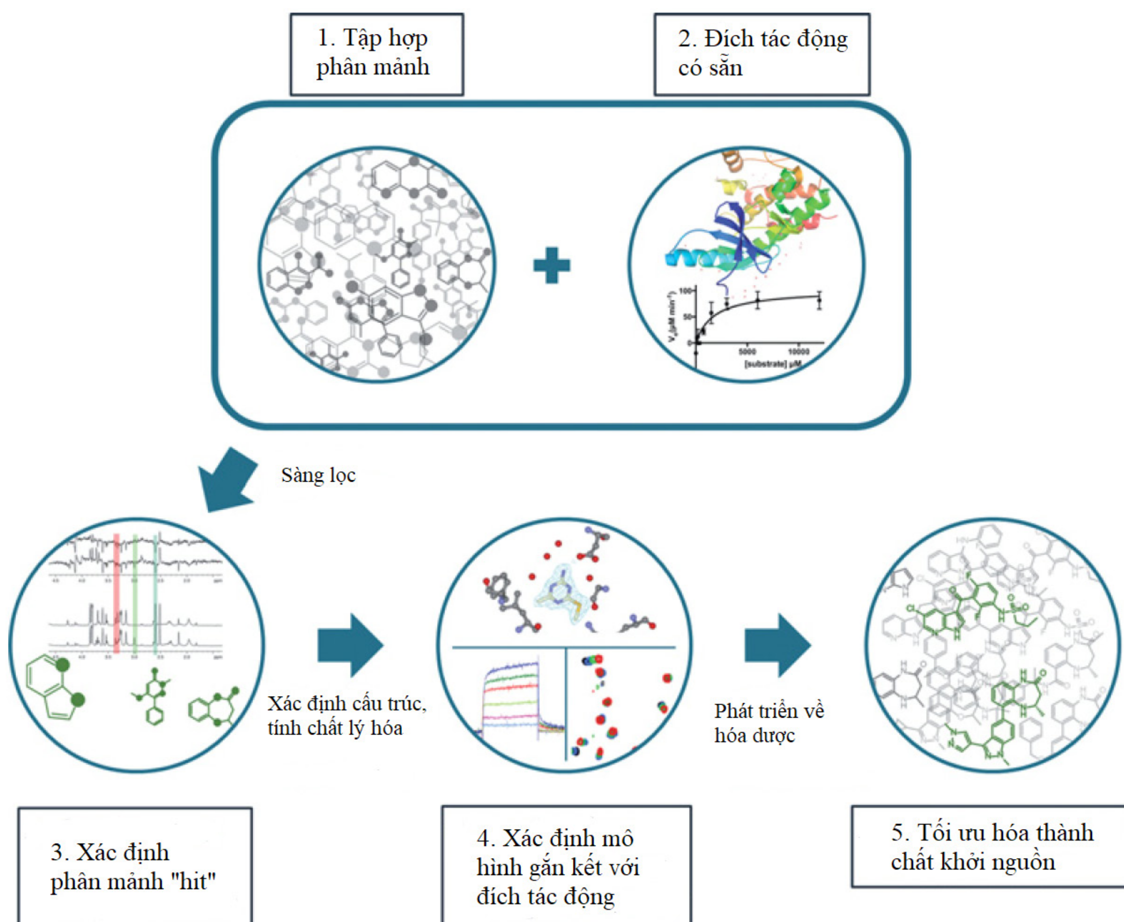
Khám phá chất khởi nguồn dựa trên phân mảnh (FBLD) liên quan đến việc sàng lọc các chất với khối lượng phân tử nhỏ (phân mảnh) sau đó áp dụng các phương pháp khác nhau để tăng hiệu lực của chất, tập trung vào hiệu suất phối tử của phân mảnh thay vì hiệu lực. Do phân tử với kích thước nhỏ không tạo nhiều điểm tiếp xúc nên tương tác giữa các phân mảnh này với đích tác động thường yếu. Cơ sở lý luận quan trọng cho phương pháp FBLD là các liên kết với đích tác động dù yếu có thể được xác định với các phân mảnh trong khi các tương tác này có thể bị cản trở nếu cấu trúc phân mảnh này nằm trong một phân tử với kích thước lớn hơn. Sau đó, các phân mảnh này được phát triển hay kết hợp với nhau để tạo ra chất khởi nguồn với hiệu lực cao hơn. Khối lượng phân tử của phân mảnh thường nằm trong khoảng 150-300 Da, mang ít nhóm chức hơn và hiệu lực dự kiến thường thấp hơn (khoảng mM đến 30 μM) so với các "hit" từ HTS (thường từ 30 μM đến nM). Do ái lực gắn kết yếu của phân mảnh với đích tác động, các phương pháp thử sinh học thông thường ít khi được sử dụng do không đủ độ nhạy, ngay cả với nồng độ phân mảnh cao (mM thay vì nồng độ μM thường dùng trong HTS). Do đó, một trong những hạn chế chính của FBLD là cần sử dụng các kỹ thuật lý sinh với độ nhạy cao, như phổ NMR, tinh thể học tia X, phổ khối (MS) hay cộng hưởng plasmon bề mặt (surface plasmon resonance-SPR) trong việc sàng lọc các phân mảnh.

Tuy nhiên, FBLD mang một số đặc điểm hấp dẫn so với HTS:

- Các hợp chất với kích thước lớn trong các thư viện hợp chất HTS thường ít có khả năng thích ứng với nhiều vị trí liên kết khác nhau trong khi phân mảnh thường dễ dàng tương tác với thụ thể một cách linh hoạt hơn, cho phép một vị trí gắn kết tối ưu. Do đó, "hit" từ phân mảnh thường có LE cao hơn.

- Số lượng các phân mảnh với ≤ 12 nguyên tử không phải là hydrogen (< 160 Da) được ước tính khoảng 14 triệu. Như vậy, tỷ lệ sàng lọc các phân mảnh (khoảng từ vài trăm đến vài ngàn) trên không gian cấu trúc phân mảnh (14 triệu) vẫn cao hơn so với tỷ lệ sàng lọc HTS (khoảng 1 triệu chất) trên không gian các hợp chất có thể dùng làm thuốc (10^{60}). Điều này dẫn đến tỷ lệ tìm ra "hit" trong sàng lọc FBLD cao hơn so với sàng lọc HTS (một báo cáo cho thấy tỷ lệ cao hơn 10-1000 lần).
- Phát triển và duy trì một thư viện với số lượng nhỏ phân mảnh dễ dàng hơn so với một thư viện lớn các hợp chất cho HTS.
- Có nhiều lựa chọn hơn trong việc tối ưu hóa cấu trúc của phân mảnh sau đó và có thể dễ dàng tạo ra cấu trúc hóa học mới hơn.
- Bắt đầu với phân mảnh có khối lượng phân tử nhỏ và tính thân dầu thấp thường cho khả năng thiết kế chất khởi nguồn với cấu trúc đơn giản và khối lượng phân tử thích hợp để dễ dàng được tối ưu hóa.

Các bước điển hình của phương pháp FBLD được tóm tắt trong Hình 4.3 [6].



Hình 4.3. Sơ đồ điển hình của phương pháp FBLD [6]

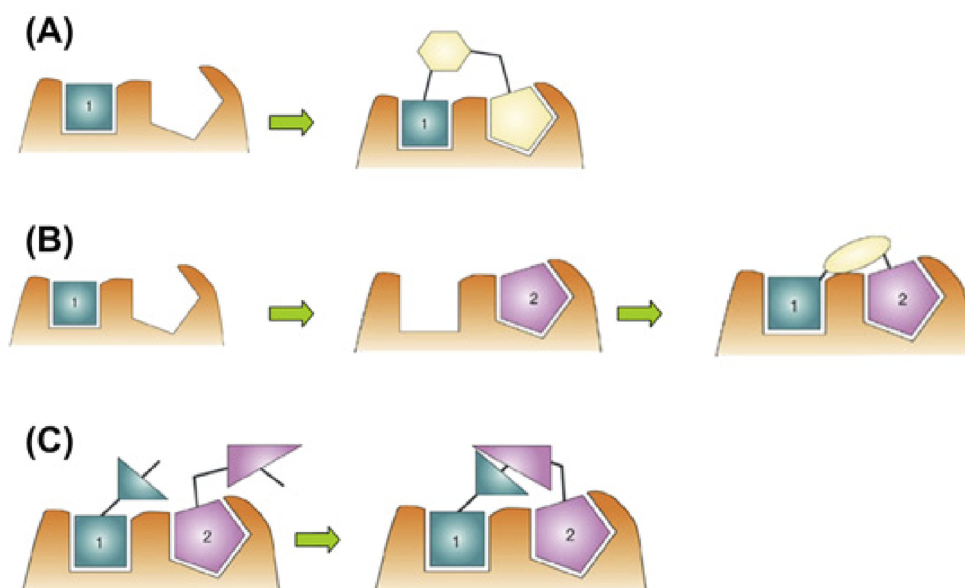
Tương tự như HTS, lựa chọn các chất thích hợp cho FBLD đóng góp quan trọng vào việc có thể nhanh chóng xác định chất khởi nguồn. Một phương chiến lược được sử dụng là tập trung vào các phân mảnh mang thành phần cấu trúc thường được tìm thấy trong các thuốc đã biết hay các hợp chất khác tương tác với protein, do đã có các nghiên cứu về độc tính và ADME. Ngoài ra, tương tự như quy tắc số 5 cho các hợp chất có thể dùng làm thuốc (xem phần 2.2), các phân mảnh có thể được lựa chọn dựa trên quy tắc số 3:

- Khối lượng phân tử < 300 Da
- Số nhóm cho liên kết hydro ≤ 3
- Số nhóm nhận liên kết hydro ≤ 3
- clogP (dự đoán) ≤ 3
- Số liên kết quay ≤ 3
- TPSA ≤ 60 $Å^2$.

Về nguyên tắc, những ràng buộc này giúp tăng xác suất thành công tạo ra các hợp chất có thể dùng làm thuốc một khi các phân mảnh được liên kết với nhau.

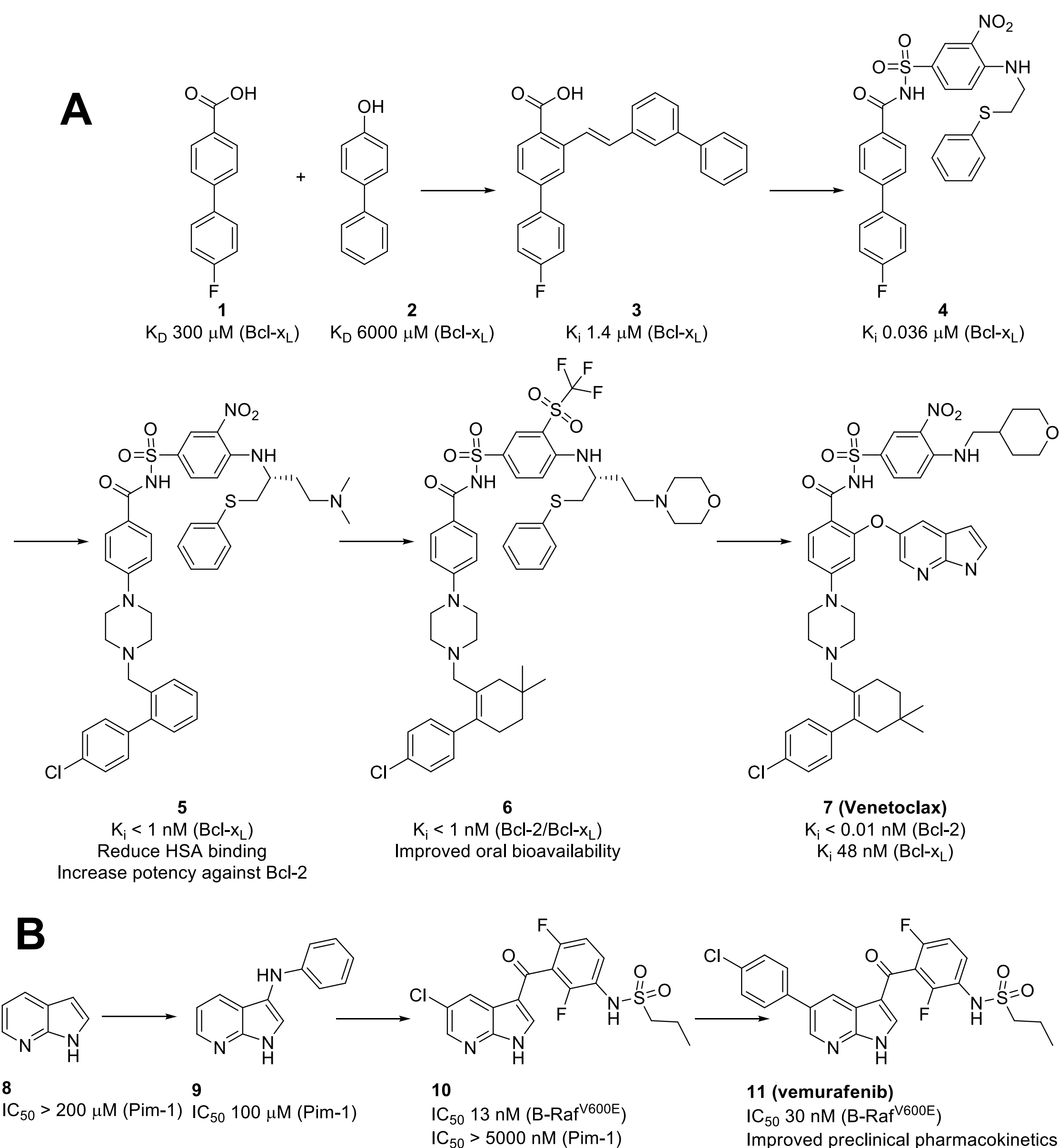
Ngoài ra, một giới hạn dưới về khối lượng phân tử nên được xem xét khi lựa chọn các phân mảnh để sàng lọc, do các phân mảnh với kích thước nhỏ hơn, ít phức tạp hơn (như chỉ chứa các vòng đơn và các nhóm chức nhỏ) có nhiều khả năng gắn kết với đích tác động với nhiều định hướng khác nhau hay gắn kết tại các vị trí hoàn toàn khác nhau, gây khó khăn cho việc thiết kế và tối ưu hóa cấu trúc sau đó. Do đó, một giới hạn dưới về khối lượng phân tử khoảng 150 Da thường được sử dụng. Mặt khác, đối với các phân mảnh đơn giản, việc xác định các yếu tố liên kết chính với đích tác động đóng vai trò quan trọng. Tương tác kị nước và tương tác tĩnh điện là hai liên kết chủ yếu giữa phối tử và protein (xem Chương 2). Do đó, hầu hết các cấu trúc trong thư viện các phân mảnh nên bao gồm một nhóm kị nước và một nhóm tạo liên kết hydro mạnh hay nhóm tích điện (charged group).

Một khi các phân mảnh "hit" được xác định bởi quá trình sàng lọc, bước tiếp theo là thiết kế chất khởi nguồn từ các phân mảnh này nhằm tăng hiệu lực đồng thời duy trì các đặc tính dược động học mong muốn. Ba chiến lược thường được sử dụng để tạo ra chất khởi nguồn bao gồm (Hình 4.4):



Hình 4.4. Các chiến lược thiết kế chất khởi nguồn từ phân mảnh:
A. Phát triển phân mảnh. B. Liên kết phân mảnh. C. Phân mảnh tự kết hợp [1]

- Phát triển phân mảnh (fragment evolution): thêm vào các cấu trúc hóa học nhằm cho phép khả năng gắn kết vào các vị trí bổ sung trong đích tác động. Một ví dụ sử dụng phương pháp này là quá trình khám phá vemurafenib, được phê duyệt cho điều trị ung thư hắc tố da giai đoạn cuối (Hình 4.5B).
- Liên kết phân mảnh (fragment linking): liên kết hai hay nhiều phân mảnh gắn kết với các vị trí nằm gần nhau trong đích tác động nhằm tăng ái lực. Venetoclax dùng trong điều trị bệnh bạch cầu mạn tính dòng lympho là một ví dụ cho thuốc phát triển bởi phương pháp này (Hình 4.5A).
- Phân mảnh tự kết hợp (fragment self-assembly): các phân mảnh mang các nhóm chức có thể phản ứng với nhau trong vị trí gắn kết với đích tác động. Phản ứng Click (Click chemistry) là một ví dụ được sử dụng trong chiến lược này khi các phân mảnh mang nhóm chức alkyne có thể phản ứng với các phân mảnh mang nhóm chức azide nằm gần đó để tạo ra các triazole tương ứng.



Hình 4.5. A. Quá trình khám phá venetoclax, chất ức chế chọn lọc Bcl2. Phương pháp sàng lọc SAR bởi NMR và tối ưu hóa cho phép xác định hai phân mảnh "hit" 1 và 2 là các chất ức chế Bcl-xL. Sự kết hợp hai phân mảnh này tạo ra hợp chất 3 và 4 với hiệu lực cao hơn. Quá trình tối ưu hóa sau đó cho ra hợp chất 5 là chất đồng ức chế Bcl-xL/Bcl-2. Hợp chất 6 được thiết kế sau đó với sinh khả dụng được cải thiện đồng thời cho phép chứng minh việc ức chế Bcl-xL dẫn đến giảm tiểu cầu. Venetoclax được thiết kế sau đó để ức chế chọn lọc Bcl-2. B. Quá trình khám phá vemurafenib, chất ức chế chọn lọc kinase đột biến B-raf V600E. Phân mảnh 8 được xác định qua sàng lọc trên kinase Pim-1. Quá trình thiết kế dựa trên cấu trúc protein giúp xác định phân mảnh 9 và hợp chất 10, sau đó tối ưu hóa cấu trúc tạo ra vemurafenib [6]

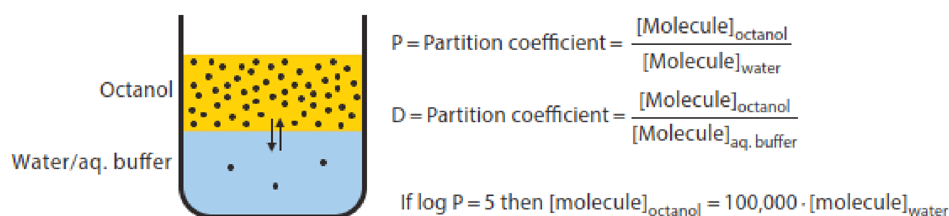
2.2. Các đặc tính mong muốn để làm thuốc (Drug-like properties) [1,2,4]

Như giới thiệu ở trên, các chất khởi nguồn cần được tối ưu hóa không chỉ về hoạt tính sinh học mà còn về các đặc tính dược động học trong quá trình phát triển thuốc. Khái niệm về "các đặc tính có thể dùng làm thuốc" (drug-likeness) giúp dự đoán các thông số trên thường được sử dụng cho việc thiết kế thuốc hợp lý nhằm tăng khả năng thành công cho quá trình khám phá các tác nhân điều trị mới, và ngày càng được xem xét ở các giai đoạn sớm (ví dụ như lựa chọn chất cho sàng lọc). Nhìn chung, các chất với khối lượng phân tử nhỏ có thể dùng qua đường uống, mang các đặc tính ADME thích hợp và độc tính chấp nhận được để có thể trải qua thử nghiệm lâm sàng pha I được coi là "có thể dùng làm thuốc". Về nguyên tắc, các đặc tính lý hóa hay cấu trúc của chất được sử dụng để dự đoán khả năng dùng làm thuốc này, ví dụ như tính thân dầu, khối lượng phân tử, số lượng các nhóm cho và nhận liên kết hydro, diện tích bề mặt phân cực (topological polar surface area-TPSA).

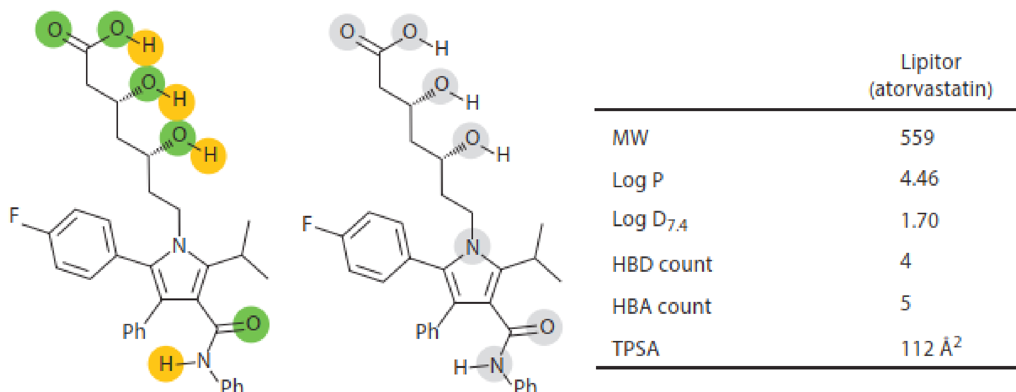
Một phân tử có thể dùng làm thuốc cần có khả năng nhất định hòa tan trong cả nước và chất béo, vì thuốc dùng đường uống cần đi qua niêm mạc ruột sau khi uống, vận chuyển trong máu (môi trường nước) và xuyên qua màng lipid của tế bào để vào bên trong tế bào. Tính thân dầu của một phân tử thường được xác định bằng sự phân bố của phân tử này giữa 1-octanol (mô hình môi trường thân dầu) và nước: log P, chỉ tính phần phân tử không ion hóa trong dung dịch; hay log D (dung dịch đệm, thường ở pH = 7.4), tính tổng các phần ion hóa và không ion hóa trong dung dịch (Hình 4.6A). Đối với các thuốc có khối lượng phân tử nhỏ, log P thường nằm trong khoảng 3-5, nghĩa là có xu hướng tan trong octanol 1000-100000 lần so với nước.

Liên kết hydro là lực hút tĩnh điện giữa nguyên tử hydrogen phân cực (gắn với một nguyên tử âm điện như oxygen hay nitrogen của một phân tử) và một nguyên tử âm điện. Liên kết hydro trên thực tế thường được hiểu là tương tác lưỡng cực - lưỡng cực mạnh (xem Chương 2).

Diện tích bề mặt phân cực (TPSA) của một phân tử được định nghĩa là tổng bề mặt của tất cả các nguyên tử phân cực, chủ yếu là oxygen và nitrogen, và do đó gần như là tổng số các nguyên tử phân cực, mỗi nguyên tử này đóng góp khoảng 14 Å. TPSA không phải lúc nào cũng dễ dàng suy đoán trực tiếp từ cấu trúc hóa học vì các nguyên tử phân cực không đóng góp như nhau và cấu trúc 3D của phân tử trên thực tế thường không được biết trước mà cần được phân tích bằng máy tính. Các công cụ vẽ cấu trúc hóa học (ví dụ như ChemDraw hay một số trang web miễn phí) thường là phương tiện thích hợp cung cấp các thông số này. Một ví dụ về các đặc tính cơ bản nêu trên của thuốc hạ cholesterol máu atorvastatin được minh họa trong Hình 4.6B.



A



	Lipitor (atorvastatin)
MW	559
Log P	4.46
Log $D_{7.4}$	1.70
HBD count	4
HBA count	5
TPSA	112 $Å^2$

B

Hình 4.6. (A) Định nghĩa log P và log D. (B) Tính chất hóa lý của atorvastatin MW (molecular weight): khối lượng phân tử; màu vàng: nhóm cho liên kết hydro (HBD), màu xanh lá: nhóm nhận liên kết hydro (HBA), màu xám: TPSA) [2]. Giá trị log $D_{7.4}$ thấp hơn đáng kể so với log P là kết quả của việc loại proton (deprotonation) của gốc carboxylic acid và tính ưa nước cao hơn của anion carboxylate.

Thông thường, các đặc tính có thể dùng làm thuốc được đánh giá thông qua một số hướng dẫn hay quy tắc dự đoán sau:

2.2.1. Luật Lipinski - Quy tắc số 5 (Lipinski rule of five - Ro5)

Lipinski đề xuất quy tắc số 5 để dự đoán sinh khả dụng đường uống của chất. Dựa trên phân tích cơ sở dữ liệu bao gồm khoảng 2500 hoạt chất với khối lượng phân tử nhỏ dùng đường uống đã qua ít nhất thử nghiệm lâm sàng pha II, quy tắc này cho thấy hơn 90% các hợp chất có hai hay nhiều hơn các đặc điểm sau sẽ có khả năng hấp thu và/hoặc phân bố kém qua đường uống:

- Khối lượng phân tử > 500
- Log P > 5
- Số nhóm cho liên kết hydro (HBD) > 5 (thường là tổng số các nhóm OH và NH)
- Số nhóm nhận liên kết hydro (HBA) > 10 (thường là tổng các nguyên tử oxygen và nitrogen).

Quy tắc số 5 không áp dụng cho các hợp chất được hấp thu tích cực qua đường ruột bởi protein vận chuyển.

2.2.2. Luật Veber

Một quy tắc khác được Veber phát triển thông qua việc đo sinh khả dụng đường uống (F) trên chuột của 1100 ứng cử viên thuốc (drug candidates). Quy tắc này cho thấy việc giảm tính linh hoạt của phân tử (xác định bởi số lượng các liên kết quay - rotatable bond, không bao gồm liên kết C-N của nhóm amide) và giảm diện tích bề mặt phân cực (TPSA) có thể giúp tăng sinh khả dụng đường uống. Sinh khả dụng đường uống của các hợp chất thường > 20% nếu các phân tử này có:

- Số lượng liên kết quay ≤ 10
- TPSA ≤ 140 $Å^2$, hoặc tổng số liên kết hydro ≤ 12 (nhóm cho và nhận).

2.2.3. Luật Waring

Waring sử dụng dữ liệu có sẵn về độ hấp thu (qua phương pháp đo tính thấm trên tế bào Caco-2) của 8865 hợp chất để so sánh với log P, log D, TPSA, số nhóm cho liên kết hydro, số nhóm nhận liên kết hydro, số liên kết quay, khối lượng phân tử và tổng số liên kết hydro. Quy tắc này cho thấy tính thấm của một phân tử thay đổi theo phạm vi khối lượng phân tử, đồng thời khối lượng phân tử và log D là các thuộc tính có ảnh hưởng quan trọng nhất đến tính thấm trên tế bào Caco-2. Bảng 4.3 hiển thị các giới hạn dưới của log D cần thiết để đạt được > 50% khả năng thấm cao.

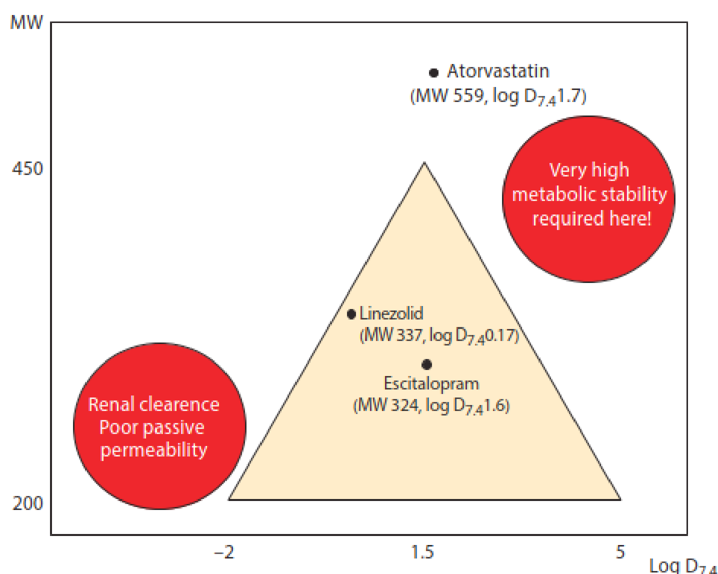
Khối lượng phân tử	**logD**
<300	>0.5
300-350	>1.1
350-400	>1.7
400-450	>3.1
450-500	>3.4
>500	>4.5

Bảng 4.3. Giá trị log D tối thiểu cần thiết để hợp chất có hơn 50% khả năng mang tính thấm cao thay đổi theo khối lượng phân tử [4]

2.2.4. Luật Tam giác vàng (Golden triangle)

Mô hình Tam giác vàng được phát triển từ dữ liệu ADME *in vitro* (tính thấm và sự ổn định chuyển hóa) cùng với giá trị log $D_{7.4}$ của 47018 hợp chất nhằm hỗ trợ việc xác định các chất có tính thấm và tính ổn định về chuyển hóa thích hợp. Trong biểu đồ này, tại đỉnh của tam giác là khối lượng phân tử với giá trị 450 và log D = 1.5; cạnh đáy với log D = -2.0 đến log D = 5.0 với khối lượng phân tử 200. Các hợp chất nằm bên trong

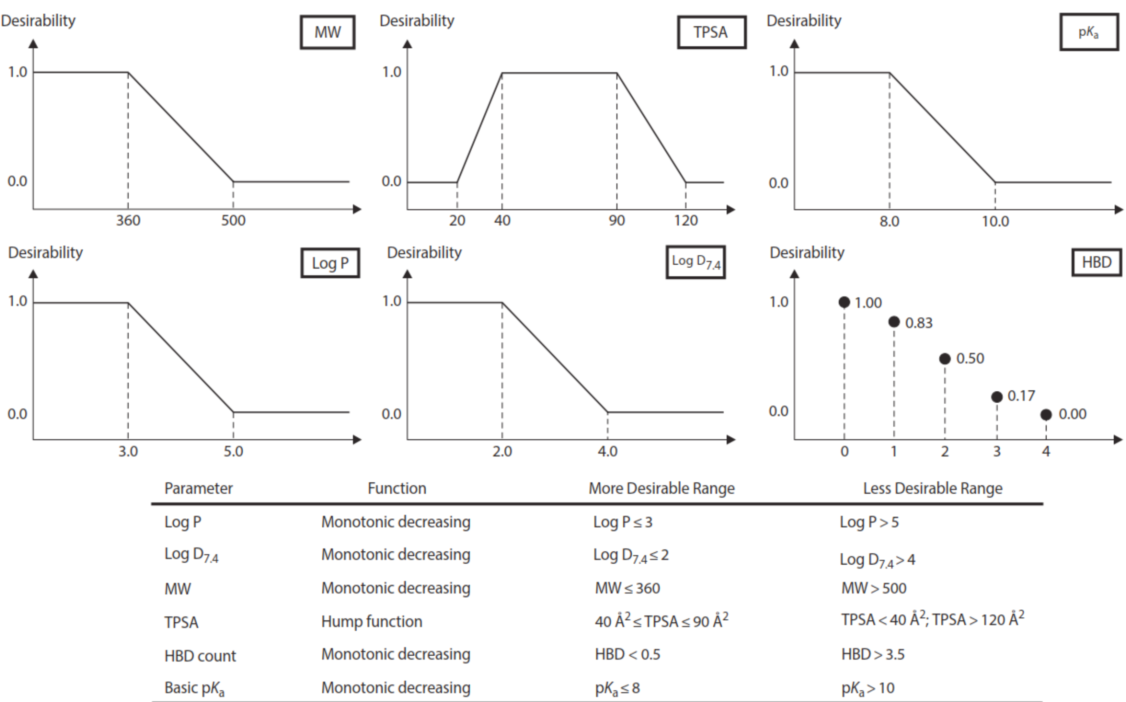
tam giác có nhiều khả năng ổn định hơn về mặt chuyển hóa và có tính thấm qua màng cao hơn so với các hợp chất nằm ngoài tam giác. Nhìn chung, các hợp chất nằm ở phần dưới bên trái biểu đồ có xu hướng mang tính thấm thấp, ít bị thanh thải bởi gan (oxy hóa) và thường được bài tiết dưới dạng không đổi qua nước tiểu. Ngược lại, các hợp chất nằm phía trên bên phải của biểu đồ thường dễ bị chuyển hóa bởi gan và cần được cải thiện (Hình 4.7).



Hình 4.7. Mô hình Tam giác vàng: Các thuốc ổn định về chuyển hóa bởi tế bào microsome của gan và có tính thấm qua màng cao thường nằm trong tam giác [2]

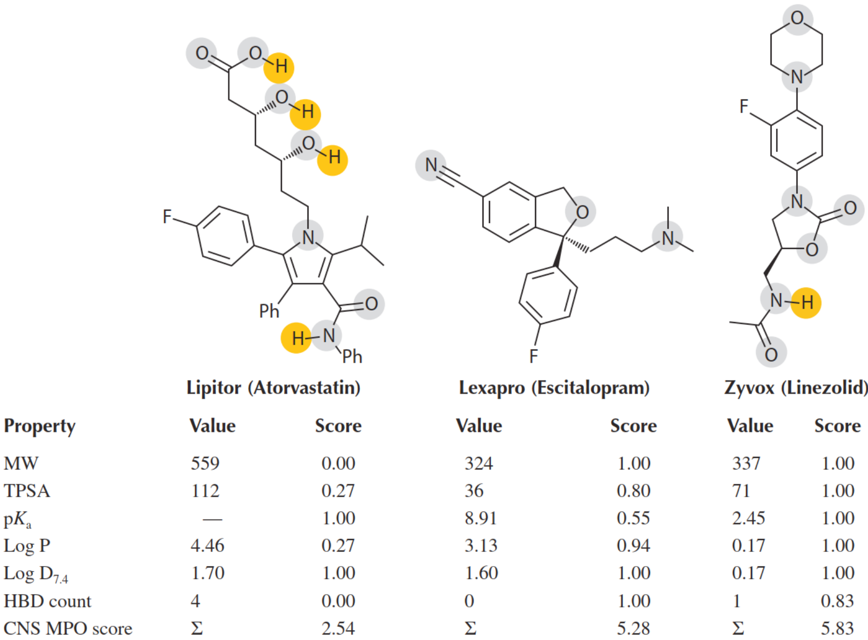
2.2.5. Thuật toán tối ưu hóa đa tham số (Multi-parameter optimization algorithm-MPO)

Mặc dù các quy tắc nêu trên đều không mang tính tuyệt đối, chúng thường được áp dụng như các giới hạn nghiêm ngặt, ví dụ như được dùng làm các tiêu chí chọn lọc chất cho sàng lọc. Như vậy, các hợp chất chỉ được phân biệt một cách định tính: đạt hay không đạt. Tuy nhiên, thực tế là một số loại thuốc được phê duyệt trên thị trường không tuân thủ các nguyên tắc này, đồng thời không có một tiêu chí duy nhất nào có thể đánh giá khả năng dùng làm thuốc bằng đường uống của một hợp chất. Do đó, các sơ đồ tính điểm với các thông số mô tả phức tạp hơn mang tính định lượng được phát triển với xu hướng "vượt ra ngoài quy tắc". Một trong những ví dụ này là thuật toán tối ưu hóa đa tham số được xây dựng cho các chất với đích tác động trên hệ thần kinh trung ương (CNS), tuy nhiên cũng có thể áp dụng cho các chất với đích tác động ngoại biên. Thay vì sử dụng các giới hạn tuyệt đối, chức năng tính điểm MPO cho phép các hợp chất nằm ngoài một hay nhiều phạm vi tối ưu và từ đó cho điểm giảm dần tùy vào mức độ vượt ra ngoài phạm vi này (Hình 4.8A). Nhìn chung, điểm số MPO trên 4 được xem là tốt. Hình 4.8B minh họa ví dụ về điểm số CNS MPO của ba thuốc atorvastatin, escitalopram và linezolid.



Parameter	Function	More Desirable Range	Less Desirable Range
Log P	Monotonic decreasing	Log P ≤ 3	Log P > 5
Log $D_{7.4}$	Monotonic decreasing	Log $D_{7.4}$ ≤ 2	Log $D_{7.4}$ > 4
MW	Monotonic decreasing	MW ≤ 360	MW > 500
TPSA	Hump function	40 $Å^2$ ≤ TPSA ≤ 90 $Å^2$	TPSA < 40 $Å^2$; TPSA > 120 $Å^2$
HBD count	Monotonic decreasing	HBD < 0.5	HBD > 3.5
Basic pK_a	Monotonic decreasing	pK_a ≤ 8	pK_a > 10

A



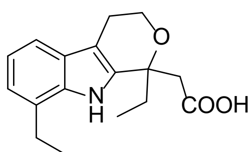
Property	Lipitor (Atorvastatin) Value	Score	Lexapro (Escitalopram) Value	Score	Zyvox (Linezolid) Value	Score
MW	559	0.00	324	1.00	337	1.00
TPSA	112	0.27	36	0.80	71	1.00
pK_a	—	1.00	8.91	0.55	2.45	1.00
Log P	4.46	0.27	3.13	0.94	0.17	1.00
Log $D_{7.4}$	1.70	1.00	1.60	1.00	0.17	1.00
HBD count	4	0.00	0	1.00	1	0.83
CNS MPO score	Σ	2.54	Σ	5.28	Σ	5.83

B

Hình 4.8. (A) Sáu tham số làm cơ sở cho điểm số CNS MPO. Với điểm số mong muốn cho mỗi thông số nằm trong khoảng từ 0 đến 1, điểm MPO tối đa (tốt nhất) có thể là 6. (B) Thang điểm CNS MPO của atorvastatin, escitalopram và linezolid (Màu vàng: nhóm cho liên kết hydro, màu xám: nguyên tử phân cực đóng góp vào TPSA) [2]

2.2.6. Một số đặc tính khác

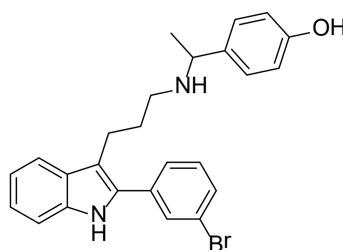
Một cách tiếp cận khác nhằm lựa chọn các chất có khả năng mang hoạt tính sinh học là xem xét các cấu trúc “ưu tiên” (privileged structure), được hiểu là các khung cấu trúc hóa học có vẻ như có thể gắn kết với nhiều đích tác động khác nhau và như vậy, với các thay đổi về cấu trúc thích hợp, có thể thể hiện các hoạt tính dược lý khác nhau. Một điều cần lưu ý là thành phần cấu trúc ưu tiên này trong một phân tử thường bao gồm hai hay ba vòng gắn với nhau bởi liên kết đơn hay vòng ngưng tụ (ring fusion), và phải đóng góp đáng kể vào kích thước của phân tử, để có thể được xem là có ảnh hưởng đến hoạt tính sinh học của chất. Một số ví dụ về các cấu trúc ưu tiên là: indole, purine, dihydropyridine, benzimidazole, benzofuran, benzopyran,… (Hình 4.9).



Etodolac

Chất ức chế cyclooxygenase 2

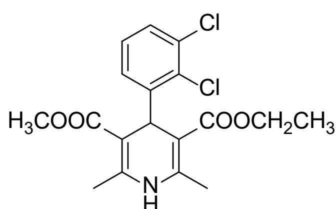
Đích tác động: enzyme



Chất khởi nguồn

Phối tử của neuropeptide Y5

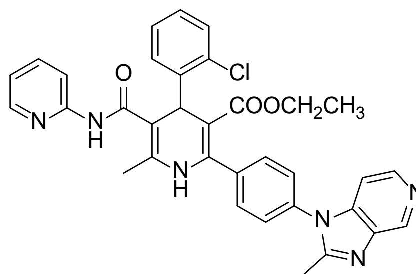
Đích tác động: GPCR



Felodipine

Chất đối vận kênh calcium

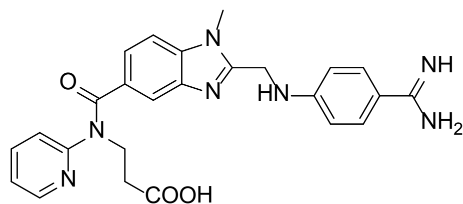
Đích tác động: kênh ion



Chất khởi nguồn tối ưu

Chất đối vận thụ thể yếu tố kích hoạt tiểu cầu

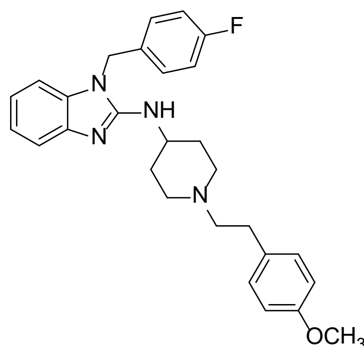
Đích tác động: GPCR



BIBR 953

Chất ức chế thrombin

Đích tác động: enzyme



Astemizole

Chất đối vận histamine

Đích tác động: GPCR

Hình 4.9. Các cặp chất có thành phần cấu trúc ưu tiên (indole, dihydropyridine, benzimidazole) và gắn kết với các đích tác động khác nhau

Ngoài ra, một tiêu chí khác thường cũng được xem xét là loại bỏ (hay cần lưu ý) các nhóm chức hay cấu trúc không mong muốn, thường bởi vì các cấu trúc này thể hiện (hoặc có khả năng gây ra) các tác dụng không mong muốn *in vivo*, được gọi là các nhóm cấu trúc có thể gây độc tính (toxicophore). Nhóm này được chia thành hai dạng: (1) các nhóm chức mang thuộc tính không mong muốn, (2) các nhóm chức có khả năng chuyển hóa thành các cấu trúc gây tác dụng không mong muốn (Bảng 4.4). Tuy nhiên, cần lưu ý rằng sự hiện diện của các cấu trúc này trong một phân tử không nhất thiết khẳng định hợp chất này không an toàn để sử dụng cho người.

Bảng 4.4. A. Một số nhóm được xem là có thể gây độc tính do khả năng phản ứng. B. Một số nhóm có thể chuyển hóa thành các cấu trúc gây tác dụng không mong muốn [1]

Nhóm có thể gây độc tính	Cơ sở lý luận
EWG EWG-electron withdrawing group (nhóm rút điện tử): carbonyl, cyano,…	Nhóm nhận Michael (Michael acceptor), là nhóm ái điện tử có thể tạo liên kết cộng hóa trị với các chất sinh học ái nhân như cysteine (-SH)
O R	Epoxide, là nhóm ái điện tử có thể alkyl hóa các chất sinh học ái nhân
R N N	Imidazole, có thể chelat hóa kim loại, ví dụ như nguyên tử sắt trong protein heme trong cấu trúc enzyme cytochrome P450
A	

Nhóm có thể gây độc tính	Cơ sở lý luận
X = O hay S	Furan hay thiophene, có xu hướng bị chuyển hóa thành nhóm epoxide ái điện tử
	Thioamide và thiourea, có xu hướng bị chuyển hóa thành nhóm imine ái điện tử
hay	Aniline, có xu hướng bị chuyển hóa thành nhóm nitroso ái điện tử hay dẫn chất quinoneimine
B	

3. TỐI ƯU HÓA CHẤT KHỞI NGUỒN

Như giới thiệu ở trên (phần 1.2), chất khởi nguồn thường cần được tối ưu hóa để trở thành ứng cử viên thuốc (drug candidate) cho giai đoạn thử nghiệm lâm sàng sau đó. Quá trình này chủ yếu liên quan đến việc cải thiện hiệu lực, hiệu quả, tính chọn lọc của chất (khía cạnh dược lực học) cũng như các đặc tính mong muốn khác như dược động học, độc tính,… bằng cách thay đổi cấu trúc hóa học của chất một cách hợp lý. Một số khái niệm và phương pháp thường được sử dụng cho việc tối ưu hóa chất khởi nguồn được giới thiệu sau đây.

3.1. Phần cấu trúc mang dược tính (pharmacophore)

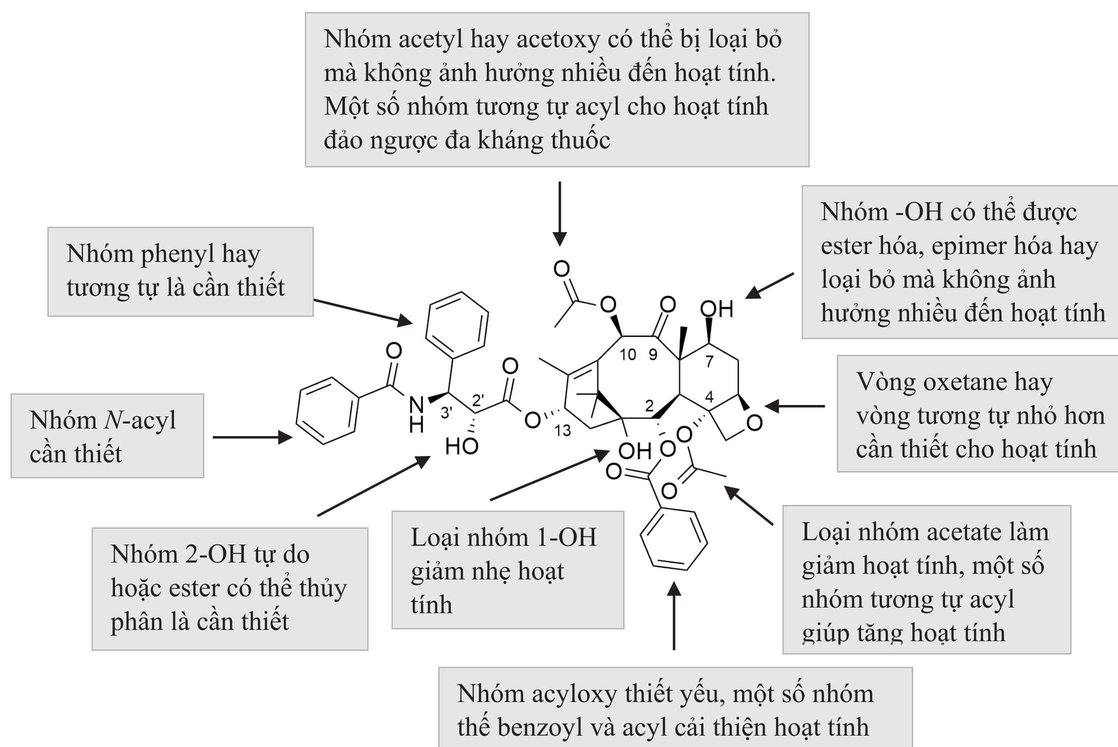
Tương tác giữa thuốc và thụ thể thường rất đặc trưng (xem Chương 2). Thông thường, chỉ một phần cấu trúc của chất khởi nguồn tham gia vào các tương tác này và chịu trách nhiệm cho hoạt tính của phân tử, được gọi là phần cấu trúc mang dược tính (pharmacophore). Các nguyên tử khác (đôi khi được gọi là auxophore) có thể cần thiết để duy trì tính toàn vẹn của phân tử hay giúp định hướng phần cấu trúc mang dược tính. Tuy nhiên, phần auxophore cũng có thể cản trở liên kết với đích tác động hay không ảnh hưởng đến các tương tác này. Như vậy, việc xác định phần cấu trúc mang dược tính rất hữu ích để định hướng các thay đổi cần thiết cho quá trình tối ưu hóa cả về mặt dược lực học và dược động học.

3.2. Liên quan cấu trúc - tác dụng (Structure-Activity Relationships-SAR)

Như tên gọi, liên quan cấu trúc - tác dụng (SAR) là mối quan hệ giữa cấu trúc hóa học của một phân tử và hoạt tính sinh học của phân tử này trên một đích tác động nhất định. Việc phân tích SAR là một trong những trọng tâm của Hóa dược và cho phép xác định phần cấu trúc chịu trách nhiệm cho hoạt tính sinh học. Nghiên cứu SAR liên quan

đến việc tổng hợp các chất có cấu trúc tương tự với chất khởi nguồn và thử hoạt tính sinh học để xác định ảnh hưởng của những thay đổi cấu trúc trên hiệu lực của chất.

Nhiều phương pháp có thể được sử dụng để theo dõi sự thay đổi cấu trúc này và xây dựng SAR như áp dụng khái niệm họa đồ hoạt tính (activity landscape), dùng các biểu diễn đồ họa cho tương quan giữa tương tự về cấu trúc và một hoạt tính nhất định [8]. Một ví dụ khác là sử dụng bản đồ SAR (SAR map), cho phép phân tích một lượng lớn dữ liệu với các nhóm thế khác nhau và tương quan giữa các nhóm thế này với hoạt tính [9]. Ngoài ra, một cách biểu diễn SAR thủ công và đơn giản thường được sử dụng là bản đồ hoạt tính phân tử (molecular activity map), là bản vẽ cấu trúc của chất được chú thích để chỉ ra các vị trí trong phân tử mà thay đổi về cấu trúc có thể ảnh hưởng đến hiệu lực (Hình 4.10).



Hình 4.10. Biểu diễn SAR của paclitaxel [1]

3.3. Thay đổi cấu trúc để tăng hiệu lực, chỉ số điều trị và đặc tính ADME

Thông thường, một mục tiêu quan trọng trong quá trình tối ưu hóa chất khởi nguồn là cải thiện chỉ số điều trị (therapeutic index-TI), là thước đo độ an toàn của một loại thuốc, được xác định từ tỷ lệ giữa nồng độ thuốc tối thiểu gây ra tác dụng không mong muốn so với nồng độ thuốc tối thiểu mang lại tác dụng mong muốn. Trên thực tế, chỉ số này thường được tính bằng tỷ lệ giữa liều gây độc tính so với liều tạo ra tác dụng dược lý mong muốn, ban đầu trên mô hình động vật và sau đó trên người khi có dữ liệu lâm sàng. Ví dụ, chỉ số

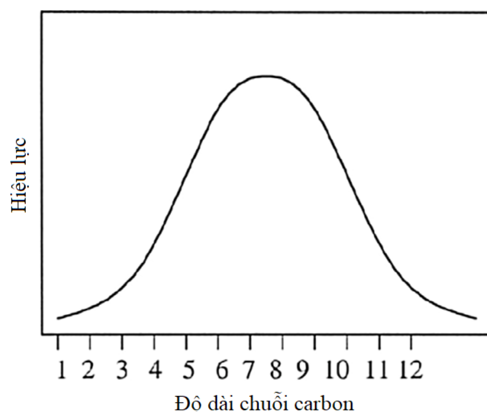
điều trị có thể là tỷ lệ giữa LD_{50} (liều gây chết trên 50% động vật thử nghiệm) so với ED_{50} trị liệu (liều tạo hiệu quả điều trị tối đa ở 50% động vật thử nghiệm). Liều gây độc ED_{50} (liều dẫn đến độc tính trên 50% động vật thử nghiệm) có thể thay thế cho LD_{50}. Không có quy định về giá trị tối thiểu cụ thể cho chỉ số điều trị để thuốc có thể được phê duyệt, điều này phụ thuộc vào bệnh liên quan và các liệu pháp đã có. Chỉ số điều trị thấp có thể được chấp nhận cho các bệnh gây tử vong cao như ung thư và AIDS (thậm chí có thể có giá trị 1-5), đặc biệt là khi không có phương pháp điều trị nào khác hay tác dụng phụ không đáng kể so với lợi ích điều trị. Đối với các bệnh ít đe dọa đến tính mạng hơn, chỉ số điều trị hợp lý thường nằm trong khoảng 10-100.

Ngoài các thay đổi cấu trúc để tăng hoạt tính và tính an toàn của chất, việc cải thiện các đặc tính ADME cũng rất cần thiết. Một yếu tố quan trọng (và trong nhiều trường hợp có thể được điều chỉnh hợp lý) có thể cải thiện tổng thể các đặc tính ADME của một phân tử là điều chỉnh tính thấm qua màng, vì điều này có thể ảnh hưởng đáng kể đến sự hấp thu và phân bố của chất.

Các chiến lược thường được áp dụng cho những thay đổi về cấu trúc đề cập đến ở trên được giới thiệu sau đây.

3.3.1. Đồng đẳng hóa (Homologation)

Một dãy đồng đẳng là một nhóm các hợp chất có cấu trúc khác nhau bởi một đơn vị không đổi, thường là nhóm methylene ($-CH_2-$). Hoạt tính sinh học của các hợp chất đồng đẳng thường thể hiện xu hướng tăng hay giảm đều đặn. Đối với nhiều nhóm hợp chất, kéo dài chuỗi bên carbon bão hòa từ một (methyl) đến chín (nonyl) nguyên tử thường giúp tăng tác dụng dược lý. Tuy nhiên, kéo dài hơn nữa dẫn đến giảm đột ngột hiệu lực (Hình 4.11). Hiện tượng này tương ứng với sự gia tăng tính thân dầu của phân tử, giúp tăng khả năng thấm qua màng tế bào, cho đến khi độ hòa tan trong nước giảm ảnh hưởng đáng kể đến quá trình vận chuyển chất trong môi trường nước hoặc độ tan quá cao trong màng lipid của tế bào.

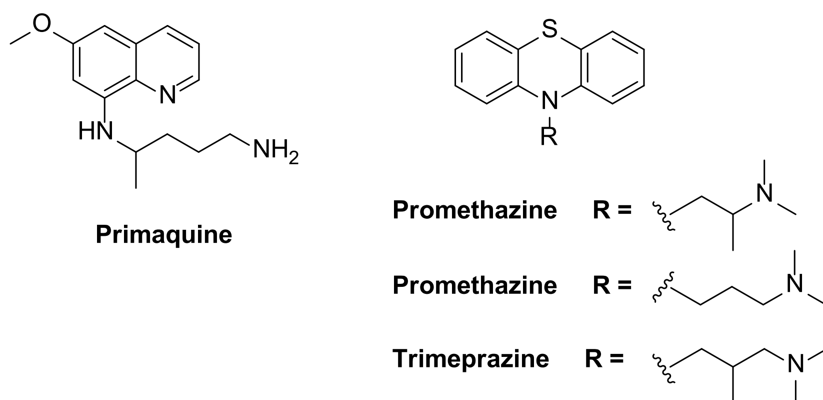


Hình 4.11. Ảnh hưởng chung của chiều dài chuỗi carbon đến hiệu lực của thuốc [1]

3.3.2. Phân nhánh chuỗi (Chain branching)

Liên quan đến tính thân dầu của chất như đề cập đến ở trên, sự phân nhánh chuỗi thường làm giảm hiệu lực của chất vì alkyl mạch nhánh ít thân dầu hơn so với alkyl mạch thẳng tương ứng do thể tích mol phân tử (molar volume) lớn hơn và cấu trúc phân nhánh của hợp chất. Như vậy, ảnh hưởng đến tính thân dầu và đến tính thấm qua màng có thể là một lý do (lập luận dựa trên dược động học). Một giải thích khác cho hiện tượng này là sự phân nhánh chuỗi có thể gây trở ngại cho khả năng gắn kết với thụ thể (lập luận dựa trên dược lực học). Ví dụ như phenethylamine là cơ chất tốt cho monoamine oxidase, nhưng α-methylphenethylamine (amphetamine) là cơ chất kém. Amine bậc một thường có hoạt tính mạnh hơn amine bậc hai, tiếp theo là amine bậc ba. Ví dụ, thuốc trị sốt rét primaquine phosphate có hoạt tính mạnh hơn nhiều so với các đồng đẳng amine bậc hai hoặc bậc ba.

Đồng thời, những thay đổi quan trọng về tác dụng dược lý có thể xảy ra khi phân nhánh chuỗi hay trong dãy đồng đẳng. Ví dụ trong trường hợp của 10-aminoalkylphenothiazine (X = H), khi R là $-CH_2CH(CH_3)N(CH_3)_2$ (promethazine), các hoạt tính chính là chống co thắt và kháng histamine. Tuy nhiên, chất tương tự mạch thẳng với R là $-CH_2CH_2CH_2N(CH_3)_2$ (promazine) có hoạt tính chống co thắt và kháng histamine giảm đáng kể, thay vào đó hoạt tính an thần và gây ngủ được tăng cường. Đối với chất tương tự mạch nhánh với R là $CH_2CH(CH_3)CH_2N(CH_3)_2$ (trimeprazine), hoạt tính an thần giảm và hoạt tính chống ngứa tăng lên (Hình 4.12). Điều này cho thấy các hợp chất trên tác động trên nhiều thụ thể và sự phân nhánh hay đồng đẳng hóa có thể ảnh hưởng đến khả năng gắn kết với các thụ thể chịu trách nhiệm cho các hoạt tính nêu trên.



Hình 4.12. Cấu trúc của primaquine, promethazine, promazine, trimeprazine

3.3.3. Đồng thể tích điện sinh học (Bioisosterism)

Nhóm đồng thể tích điện sinh học (bioisostere) là nhóm hay nhóm thế có các điểm tương đồng về hóa học hay vật lý với hình dạng phân tử tương tự, và tạo ra các đặc tính sinh học gần như nhau. Sử dụng các nhóm đồng thể tích điện sinh học là một phương pháp hữu ích trong quá trình tối ưu hóa chất khởi nguồn nhằm làm giảm độc tính, điều

chỉnh hoạt tính cũng như có thể thay đổi đáng kể đặc tính dược động học của chất. Các nhóm đồng thể tích điện sinh học được chia thành 2 dạng:

- Đồng thể tích điện sinh học cổ điển (classical bioisosteres): các nhóm có cùng số electron hóa trị, nhưng có thể có số nguyên tử khác nhau hoặc theo nghĩa rộng hơn là các nguyên tử, ion hay phân tử có các lớp electron bên ngoài được coi là giống nhau.
- Đồng thể tích điện sinh học không cổ điển (nonclassical bioisosteres): các nhóm không có cùng số nguyên tử và không nằm trong các quy tắc về không gian và điện tử nêu trên của dạng cổ điển, nhưng thường tạo ra các hoạt tính sinh học tương tự (Bảng 4.5).

Bảng 4.5. Một số ví dụ về các nhóm đồng thể tích điện sinh học

Cổ điển	
Nhóm có một hóa trị (monovalent)	-F, -OH, $-NH_2$, $-CH_3$, -Cl, -SH -Br, -*i*-Pr -I, -*t*-Bu
Nhóm có hai hóa trị (bivalent)	$-CH_2-$, -O-, -S-, -Se-, -NH- $-COCH_2R$, -CONHR, -COOR, -COSR
Nhóm có ba hóa trị (trivalent)	-N=, -P=, -CH=, -As=
Các vòng	S O S H N
Không cổ điển	
Nhóm hydroxyl	-OH, $-CH_2OH$, -NHCOR, $-NHSO_2R$, $-NHCONH_2$
Nhóm carbonyl	CO, $C=C(CN)_2$, $-SO_2NRR'$, CONRR', =CHCN
Carboxylic acid	-COOH, $-SO_2NHR$, $-SO_3H$, $-PO_3H_2$, -CONHOH HN N N N; OH N O; OH O O
Halogen và cyanide	-X, $-CF_3$, -CN, $-N(CN)_2$, $-C(CN)_3$
Spacer	$-(CH_2)_3-$,

Khi thay thế bằng các nhóm đồng thể tích điện sinh học, một hoặc nhiều thông số sau sẽ thay đổi: kích thước, hình dạng, sự phân bố điện tử, độ tan trong lipid, độ tan trong nước, pK_a, tính phân cực, khả năng tạo phản ứng hóa học và liên kết hydro. Do đó, phương pháp này cho phép điều chỉnh một số thông số để tăng hiệu lực, tính chọn lọc, thời gian tác dụng và giảm độc tính của chất. Cụ thể sự thay thế này có thể dẫn đến một hay nhiều tác dụng sau:

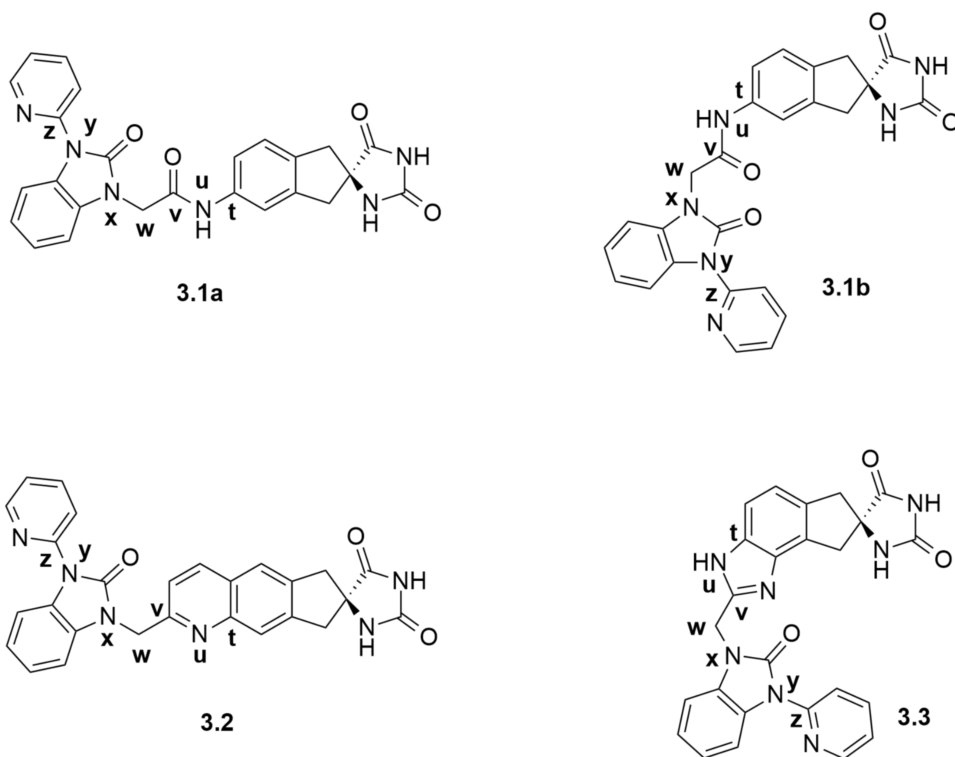
- Cấu trúc: nếu phần được thay thế có vai trò trong việc duy trì cấu trúc hình học cụ thể của phân tử thì kích thước, hình dạng, độ phân cực và liên kết hydro có thể bị ảnh hưởng.
- Tương tác với thụ thể: nếu phần được thay thế tham gia vào liên kết với thụ thể thì tất cả các thông số (thường ngoại trừ độ tan trong nước và lipid) có thể bị ảnh hưởng.
- Dược động học: nếu phần được thay thế cần thiết cho sự hấp thu, vận chuyển và thải trừ của hợp chất thì tính thân dầu, tính ưa nước, pK_a và liên kết hydro có thể bị ảnh hưởng.
- Chuyển hóa: nếu phần được thay thế liên quan đến việc ức chế hay hỗ trợ quá trình chuyển hóa của chất thì các phản ứng chuyển hóa có thể bị ảnh hưởng.

Ngoài ra, việc xác định phần cấu trúc mang dược tính (phần 3.1) có thể hỗ trợ cho việc thay thế đồng thể tích điện sinh học thích hợp nhằm duy trì hoạt tính đồng thời cải thiện các đặc tính mong muốn khác.

3.3.4. Kiểm soát cấu dạng và thay thế chuỗi bằng vòng

Một thay đổi khác thường được sử dụng trong tối ưu hóa chất khởi nguồn là thêm vào các hạn chế về cấu dạng (conformational constraints). Các phân tử với các liên kết quay có thể có nhiều cấu dạng khác nhau, và cấu dạng liên kết với đích tác động (cấu dạng mang hoạt tính sinh học - bioactive conformation) thường không dễ dàng được xác định. Một cách giúp làm rõ cấu dạng mang hoạt tính sinh học của chất là xác định cấu trúc của chất gắn kết với đích tác động bằng tinh thể học tia X hay các kỹ thuật NMR phức tạp. Tuy nhiên khi thông tin về cấu trúc thực nghiệm này không có sẵn, một phương pháp khác có thể được áp dụng là tổng hợp các chất tương đồng với tính linh động về cấu trúc giảm. Ví dụ như cấu trúc 3.1a và 3.1b thể hiện hai cấu dạng khác nhau của hợp chất 3.1 (Hình 4.13). Hợp chất này là một chất khởi nguồn trong nghiên cứu thuốc chống đau nửa đầu với đích tác động là một thụ thể peptide liên quan đến gen calcitonin. Các liên kết quay được chú thích từ t đến z. Cấu trúc 3.1a chỉ khác với 3.1b bằng cách quay liên kết t-u một góc 180°. Hợp chất 3.2 hạn chế khả năng quay của liên kết t-u và u-v bằng cách thay thế gốc amide bằng vòng pyridine. Hợp chất này có cấu dạng gần với 3.1a và gắn với thụ thể với ái lực tương tự như 3.1. Ngược lại, trong hợp chất 3.3, liên kết amide được thay thế bằng vòng imidazole và mang cấu dạng gần với 3.1b. Tuy nhiên, 3.3 gắn kết với thụ thể với ái lực thấp hơn nhiều so với 3.1. Điều này gợi ý rằng cấu dạng mang hoạt tính

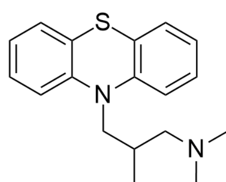
sinh học của hợp chất 3.1 (ít nhất là đối với các liên kết t-u và u-v) tương tự như cấu dạng của 3.1a. Các hợp chất 3.2 và 3.3 được gọi là các chất tương đồng với cấu dạng hạn chế (conformationally rigid, conformationally restricted, conformationally constrained).

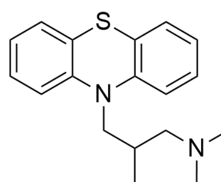


Hình 4.13. Sử dụng chất tương đồng với cấu dạng hạn chế để xác định cấu dạng mang hoạt tính sinh học

Trong một số trường hợp, các chất với cấu dạng hạn chế tương tác với đích tác động một cách thuận lợi hơn, dẫn đến tăng hiệu lực. Ngoài ra, sự hạn chế về cấu dạng có thể dẫn đến sự khác biệt về ái lực của chất với các đích tác động khác nhau, giúp cải thiện tính chọn lọc. Mặt khác, như đề cập đến trong luật Veber, mang nhiều liên kết quay trong cấu trúc có thể làm giảm khả năng hấp thu qua đường tiêu hóa của chất, do đó, giảm số lượng các liên kết quay bằng cách thêm vào các hạn chế về cấu dạng cũng là một chiến lược để cải thiện đặc tính của chất.

Một phương pháp đơn giản để tạo ra các hạn chế hay ràng buộc này là liên kết các nhóm alkyl để tạo ra các dẫn chất mạch vòng tương ứng, gọi là thay thế chuỗi bằng vòng (ring-chain transformation). Ví dụ như trong trường hợp của trimeprazine, nhóm methyl mạch bên và một trong hai nhóm methyl của gốc dimethylamino được liên kết để tạo ra methdilazine với hoạt tính chống ngứa tương tự (Hình 4.14). Mặc dù không có thay đổi đáng kể về hiệu lực, sự thay thế chuỗi bằng vòng này giúp tăng tính thân dầu của chất từ đó tăng hiệu quả *in vivo* của thuốc.





Hình 4.14. Cấu trúc của trimeprazine và methdilazine

3.3.5. Chất mô phỏng peptide (Peptidomimetics)

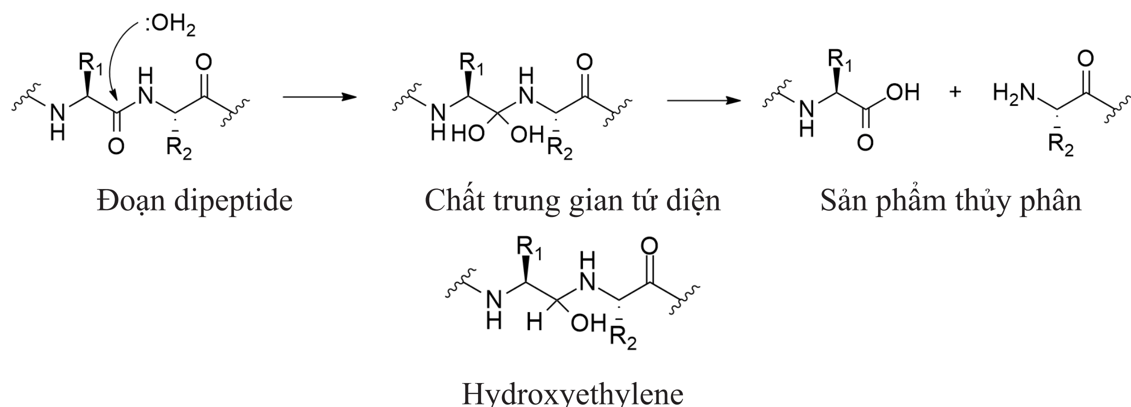
Peptide là một loại phối tử nội sinh quan trọng liên kết với nhiều loại thụ thể và hoạt động như các chất dẫn truyền thần kinh, hormone, chất điều hòa thần kinh (ví dụ như endorphin, enkephalin, chất P, cholecystokinin, oxytocin, vasopressin, somatostatin), dẫn đến nhiều tác dụng khác nhau như giảm đau, tác động lên huyết áp, kháng ung thư,… Tuy nhiên, peptide thường không trở thành ứng cử viên thuốc tốt, đặc biệt với thuốc dùng đường uống, do bị phân hủy nhanh chóng trong đường tiêu hóa và trong máu, có sinh khả dụng kém và bị bài tiết nhanh chóng. Ngoài ra, một số peptide có thể liên kết với nhiều thụ thể, đặc biệt là các thụ thể thuộc cùng một nhóm, do đó có tính chọn lọc kém. Như vậy các chất có thể mô phỏng hoặc cản trở tác dụng sinh học của một peptide thông qua tương tác với thụ thể hoặc enzyme liên quan đến sinh tổng hợp hay dị hóa peptide này, nhưng không có các đặc tính không mong muốn của peptide được gọi là các chất mô phỏng peptide.

Nhìn chung, thiết kế các chất mô phỏng peptide cũng áp dụng các nguyên tắc và phương pháp đề cập đến ở trên, đặc biệt là các phương pháp hạn chế cấu dạng. Đồng thời, mục tiêu của mô phỏng peptide là thay thế tốt nhất có thể mạch chính của peptide bằng các cấu trúc không phải là peptide trong khi vẫn duy trì các nhóm mang dược tính (pharmacophore). Điều này thường cũng tăng tính thân dầu của chất, có thể giúp tăng sinh khả dụng. Hơn nữa, thay thế các liên kết amide bằng các nhóm cấu trúc khác cản trở sự phân giải protein và tăng tính ổn định chuyển hóa. Một phương pháp phổ biến và quan trọng thường được áp dụng là sử dụng các nhóm đồng thể tích điện sinh học (Bảng 4.6).

Bảng 4.6. Một số ví dụ về các nhóm đồng thể tích điện sinh học sử dụng trong mô phỏng peptide [1]

Nhóm thế đồng thể tích điện sinh học	Kéo dài chuỗi	Đồng thể tích điện sinh học của amide
[HN]–[C(R)H]–[C(=O)]–	HN–[X]–C(R)H–C(=O)–	–[C(=O)–NH]
O (depsi); N (aza); C=S (thio)	O	–NH–C(=O)–; $-CH_2-CH_2-$ (Carba)
S; C–R'; CH_2	NH	–CH(OH)–CH_2– (Hydroxyethylene); –CH(CF_3)–NH–
CH_2; SO_n (n = 1, 2)	CH_2	–C(=O)–CH_2– (Ketomethylene); –P(=O)(OH)–CH_2–
P(=O)–OH		HC=CH (*E*-alkene)

Một trong những ví dụ đáng chú ý trong thiết kế các thuốc mô phỏng peptide có thể kể đến là các thuốc ức chế protease của virus HIV (xem Bài Thuốc kháng virus). Một trong những nguyên tắc chính của thiết kế thuốc ức chế protease là thay thế liên kết amide sẽ bị thủy phân bởi enzyme trong cấu trúc của cơ chất peptide bởi một nhóm đồng thể tích điện sinh học, ví dụ như nhóm hydroxyethylene (Bảng 4.6), nhằm mô phỏng cấu trúc tứ diện (tetrahedral) của chất trung gian trong quá trình thủy phân liên kết amide này (Hình 4.15).



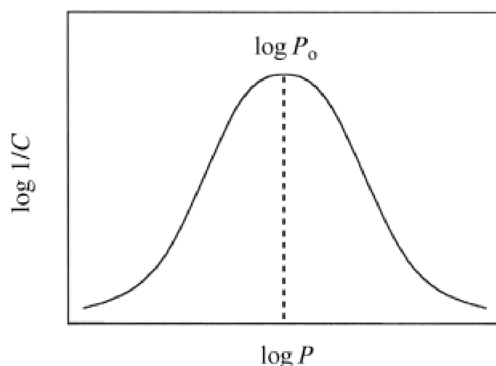
Hình 4.15. Sự thủy phân một liên kết peptide cho thấy phản ứng ái nhân của phân tử nước trên nhóm carbonyl tạo ra chất trung gian với cấu trúc tứ diện. Nhóm đồng thể tích điện sinh học hydroxyethylene mô phỏng cấu trúc này [1]

3.4. Thay đổi cấu trúc để tăng sinh khả dụng đường uống và tính thấm qua màng

Ít hơn 10% các ứng cử viên thuốc tham gia thử nghiệm lâm sàng được phê duyệt để sử dụng trên thị trường. Để hạn chế lãng phí về thời gian và nguồn lực khi quá trình phát triển thuốc thất bại ở giai đoạn muộn do các vấn đề dược động học, các đặc tính này nên được xem xét càng sớm càng tốt. Một số yếu tố sau đây có thể ảnh hưởng đến sinh khả dụng đường uống và tính thấm qua màng của chất và có thể được cải thiện trong quá trình tối ưu hóa.

3.4.1. Tính thân dầu (Lipophilicity)

Như giải thích trong các phần trên, tính thân dầu đóng vai trò quan trọng trong khả năng thấm qua màng của một hợp chất và do đó cần được xem xét trong quá trình thiết kế thuốc. Tính thân dầu thường được xác định bằng giá trị log P hay log D (xem phần 2.2) và được chứng minh là có ảnh hưởng đến hoạt tính sinh học của chất (Hình 4.16).



Hình 4.16. Ảnh hưởng của log P đến hoạt tính sinh học. P là hệ số phân tán dung môi/nước, C là nồng độ chất cần thiết để tạo ra hoạt tính sinh học. Log P_o là log P tối ưu cho hoạt tính sinh học [1]

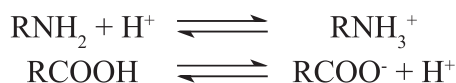
Đồng thời, việc ước lượng tính thân dầu của các nhóm thế trên phân tử (hằng số kị nước π-lipophilicity substituent constant) có thể hỗ trợ cho việc xác định tính thân dầu của toàn phân tử và từ đó định hướng cho việc tổng hợp các dẫn chất với tính thân dầu được thay đổi thích hợp.

3.4.2. Cân bằng hiệu lực của các chất có thể ion hóa với tính thân dầu và sinh khả dụng đường uống

Đích tác động của thuốc thường là protein, bao gồm các amino acid có mạch bên với các trạng thái ion hóa khác nhau tùy vào pH của môi trường. Ví dụ, các nhóm anion trong protein gồm carboxylic acid (aspartic acid và glutamic acid, pK_a 4-4.5), phenol (tyrosine, pK_a9.5-10), sulfhydryl (cysteine, pK_a 8.5-9) và hydroxyl (serine và threonine, pK_a 13.5-14). Các nhóm cation trong protein bao gồm nhóm imidazole (histidine, pK_a

6-6.5), amino (lysine, pK_a 10-10.5), và guanidino (arginine, pK_a 12-13). Ở pH sinh lý (pH 7.4), các nhóm có tính acid về cơ bản sẽ tồn tại hoàn toàn hay một phần dưới dạng anion. Tương tự, các nhóm base (như amine) sẽ được proton hóa một phần hay hoàn toàn thành cation. Điều này cũng áp dụng với thuốc, trạng thái ion hóa của thuốc sẽ phụ thuộc vào pK_a của các nhóm có thể ion hóa trong cấu trúc và pH của môi trường. Như vậy, quá trình ion hóa có thể ảnh hưởng đáng kể đến sự tương tác của thuốc với đích tác động cũng như tính thân dầu và khả năng thấm qua màng của thuốc.

Đồng thời, một trạng thái cân bằng được thiết lập giữa dạng trung hòa và dạng ion hóa của một phân tử hoặc nhóm phụ thuộc vào pH của môi trường và pK_a của nhóm có thể ion hóa.



Đối với một chất có thể ion hóa với pK_a cho trước, tỷ lệ của dạng ion hóa so với dạng không bị ion hóa được cho bởi phương trình Henderson-Hasselbalch:

$$pH = pKa - log\frac{[HA]}{[A^-]}$$

Dạng không ion hóa của phân tử được cho là có khả năng thấm qua màng, và một khi qua màng sẽ được ion hóa và thiết lập trạng thái cân bằng tùy vào pH của môi trường phía bên kia màng, cho phép tương tác với đích tác động dưới dạng ion hóa (nếu đây là dạng tạo liên kết tốt hơn). Để điều chỉnh trạng thái cân bằng ion hóa của chất, có thể thêm vào các nhóm rút điện tử (electron-withdrawing) hay cho điện tử (electron-donating): nhóm rút điện tử làm giảm pK_a, giúp acid dễ ion hóa hơn và base ít ion hóa hơn.

Giá trị pK_a có thể thay đổi đáng kể trong các môi trường vi mô khác nhau, do đó trong quá trình tối ưu hóa chất khởi nguồn, nên tổng hợp các hợp chất với giá trị pK_a thay đổi nhiều để có thể xác định ảnh hưởng của pK_a đến hiệu lực của chất.

3.4.3. Các đặc tính ảnh hưởng đến khả năng vượt qua hàng rào máu - não (Blood-Brain Barrier, BBB)

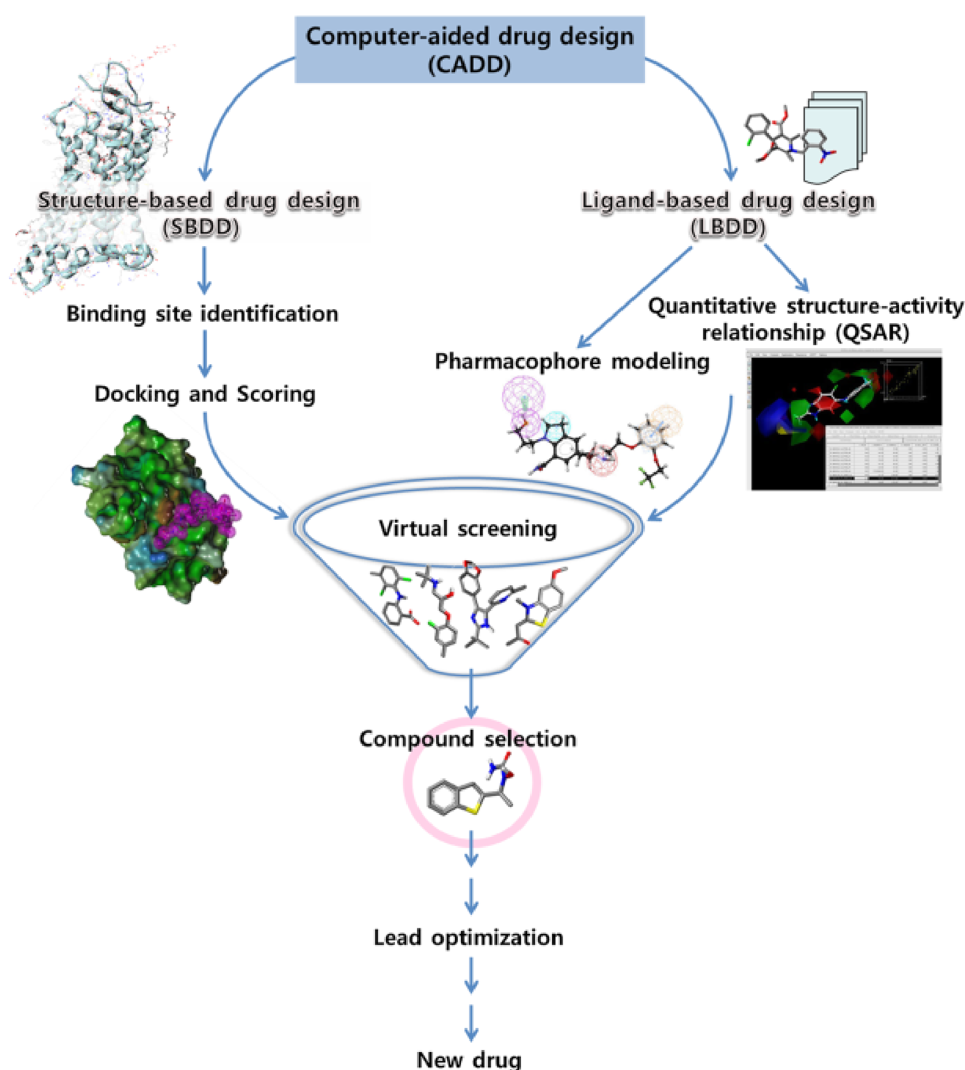
Hàng rào máu não là một lớp các tế bào nội mô hoạt động như một rào cản, ngăn chặn các phần tử nhất định đi từ máu vào hệ thần kinh trung ương, nhưng cho qua các chất dinh dưỡng (sinh học) cần thiết của tế bào não. Đây là hàng rào thẩm thấu hạn chế nhiều nhất sự xâm nhập của các chất so với các màng khác trong cơ thể. Một số nghiên cứu được thực hiện nhằm xác định các đặc tính quan trọng ảnh hưởng đến khả năng vượt qua hàng rào máu não và hoạt tính trên hệ thần kinh trung ương của thuốc cho thấy nếu

khối lượng phân tử, mức độ phân nhánh chuỗi, số liên kết quay hay số nhóm nhận liên kết hydro tăng lên thì các hợp chất này ít có khả năng có hoạt tính trên hệ thần kinh trung ương. Ngược lại, nếu mật độ vòng thơm hoặc log P tăng, chất có nhiều khả năng có hoạt tính trên hệ thần kinh trung ương. Ngoài ra, tính thân dầu có vẻ quan trọng hơn tính linh hoạt trong cấu trúc đối với sự xâm nhập qua hàng rào máu não.

4. THIẾT KẾ THUỐC VỚI SỰ HỖ TRỢ CỦA MÁY TÍNH [9]

Như giới thiệu trong phần 1.2, khám phá và phát triển thuốc là một quá trình tốn kém về tiền bạc, nhân lực và thời gian. Mặc dù những đổi mới trong hóa học tổ hợp giúp gia tăng thư viện các hợp chất và sự phát triển của HTS, số lượng các thuốc mới (new molecular entities-NMEs) được đưa ra thị trường không ngừng giảm trong vài năm trở lại đây. Do đó, sử dụng các kỹ thuật thiết kế thuốc với sự hỗ trợ của máy tính (Computer-aided drug design-CADD) trở nên ngày càng phổ biến nhằm đẩy nhanh quá trình phát triển thuốc, tăng hiệu quả và giảm thiểu khả năng thất bại trong các giai đoạn cuối của quá trình này.

Nhìn chung, CADD được phân loại thành các phương pháp dựa trên cấu trúc (structure-based) và dựa trên phối tử (ligand-based) (Hình 4.17). Phương pháp dựa trên cấu trúc liên quan đến việc sử dụng cấu trúc 3D của đích tác động (enzyme/thụ thể) để tạo ra hoặc sàng lọc *(in silico)* các chất có tiềm năng gắn kết, theo đó là tổng hợp hóa học, thử hoạt tính sinh học và tối ưu hóa. Ngược lại, cách tiếp cận dựa trên phối tử sử dụng các phương pháp tính toán bằng máy tính dựa trên một tập hợp các hợp chất có cấu trúc đa dạng và hiệu lực đã được xác định để phát triển các mô hình dự đoán lý thuyết. Sau đó, các mô hình này được sử dụng để tối ưu hóa cấu trúc nhằm nâng cao hiệu lực và xác định các hợp chất có tiềm năng mới thông qua sàng lọc bằng máy tính (virtual screening) một cơ sở dữ liệu hóa học lớn. Mỗi phương pháp có ưu điểm và nhược điểm riêng do đó có thể được kết hợp trong quá trình khám phá thuốc mới để bổ sung cho nhau và tăng hiệu quả.

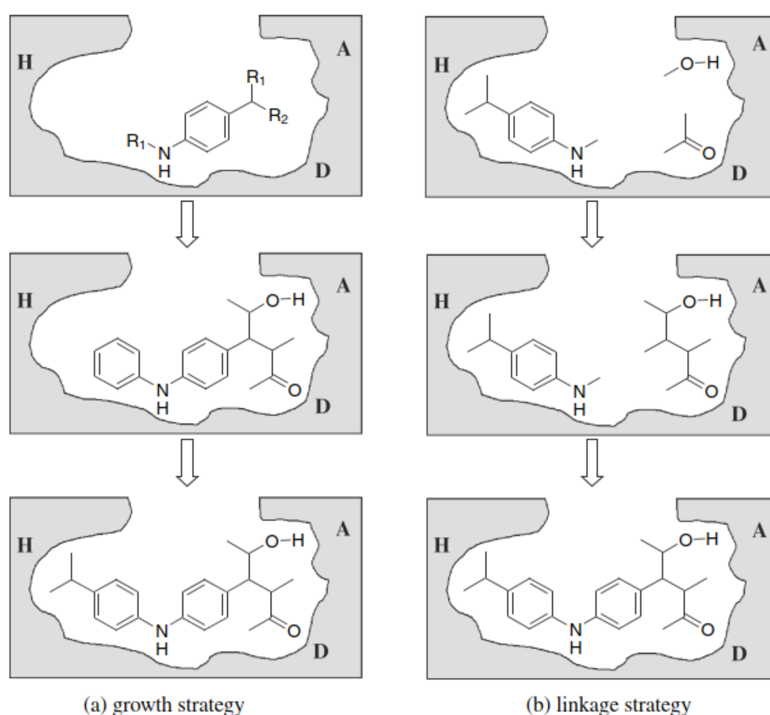


Hình 4.17. Các bước điển hình của hai phương pháp trong thiết kế thuốc với sự hỗ trợ của máy tính [9]

4.1. Thiết kế thuốc dựa trên cấu trúc (Structure-based drug design-SBDD)

Trong phương pháp SBDD, thông tin thu thập từ cấu trúc 3D của vị trí gắn kết trên đích tác động được sử dụng để thiết kế và đánh giá các hợp chất dựa trên việc dự đoán khả năng tương tác với đích tác động. Do đó, xác định đích tác động (target validation) và cấu trúc của chúng là những bước quan trọng đầu tiên trong SBDD. Thông thường các kỹ thuật nghiên cứu cấu trúc sinh học như tinh thể học tia X, phổ NMR, kính hiển vi điện tử nghiệm lạnh (cryogenic electron microscopy - EM), mô hình hóa tương đồng (homology modeling) và mô phỏng động lực phân tử (molecular dynamic - MD) được sử dụng để thu thập các thông tin này. SBDD có thể được chia thành hai phân nhóm: phương pháp *de novo* và phương pháp sàng lọc ảo (virtual screening-VS):

- Thiết kế *de novo* khai thác thông tin từ cấu trúc 3D của đích tác động để tìm các phân mảnh có khả năng tương tác thích hợp với vị trí gắn kết. Các phân mảnh này sau đó sẽ được kết hợp với nhau theo quy tắc đảm bảo khả năng có thể được tổng hợp hóa học nhằm tạo ra các hợp chất với cấu trúc mới để được thử hoạt tính sinh học sau đó (Hình 4.18).
- Sàng lọc ảo sử dụng thư viện các hợp chất có sẵn nhằm xác định các hợp chất có tiềm năng tương tác với đích tác động bằng cách áp dụng các chương trình docking.



Hình 4.18. Chiến lược phát triển và liên kết trong thiết kế *de novo*.
Túi gắn kết của đích tác động được xác định với các vị trí: kị nước (hydrophobic-H), nhóm nhận liên kết hydro (hydrogen bond acceptor-A) và nhóm cho liên kết hydro (hydrogen bond donor-D) [10]

4.1.1. Dự đoán hay xác định vị trí gắn kết

Vị trí gắn kết lý tưởng trên đích tác động là một vùng không gian lõm chứa một số nhóm chức có khả năng tương tác với phối tử để tạo ra tác dụng sinh học mong muốn (hoạt hóa, điều chỉnh hay ức chế). Trên thực nghiệm, các thông tin về vị trí này có thể được xác định từ cấu trúc đồng kết tinh (cocrystal structure) của đích tác động với cơ chất hay chất ức chế, cũng như các nghiên cứu đột biến trên protein nhằm xác định các amino acid quan trọng trong tương tác. Đồng thời, các phương pháp tính toán dựa trên máy tính giúp phát hiện và mô tả đặc tính của vị trí gắn kết này ngày càng được phát triển để hỗ trợ cho việc thiết kế thuốc khi các thông tin thực nghiệm không có sẵn. Thật vậy, vị trí tương tác

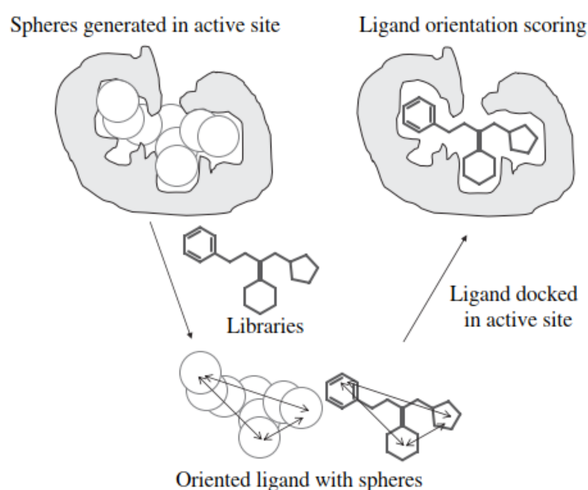
giữa một hợp chất có khối lượng phân tử nhỏ với protein có thể được dự đoán bằng cách sử dụng các công cụ như PASS, Q-SiteFinder, CASTp, LIGSITEcsc, SiteMap, FPocket, ConCavity, MED-SuMo, MDPocket, FTMAP, POOL,… Đối với peptide, một số phương pháp có thể được áp dụng như PepSite, PeptiMap, PEPSiteFinder. Ngoài ra, một số công cụ được phát triển gần đây cho phép dự đoán các vị trí gắn kết dị lập thể (allosteric binding site) có thể hỗ trợ thêm cho quá trình thiết kế thuốc: SPACER, MCPath, Allosite, PARS.

4.1.2. Docking và cho điểm (Docking and scoring)

Docking là một trong những phương pháp phổ biến nhất trong SBDD nhằm dự đoán phương thức gắn kết của một hợp chất với đích tác động cụ thể và ước lượng ái lực của tương tác này. Về nguyên tắc, docking sử dụng các thuật toán nhằm tìm kiếm cấu dạng của một hợp chất cho khả năng liên kết tốt nhất với vị trí gắn kết trên đích tác động. Trong quá trình tìm kiếm này, các chương trình docking sẽ "cho điểm" các cấu dạng và xếp hạng các cách thức gắn kết khác nhau của các hợp chất trong vị trí gắn kết, bằng cách sử dụng các hàm số toán học, gọi là hàm số cho điểm docking (scoring function). Các hàm số này thường được chia thành ba thể loại:

- Hàm số dựa trên trường lực (force field-based functions): ước lượng ái lực dựa trên tổng các liên kết van der Waals và tương tác tĩnh điện giữa tất cả các nguyên tử trong phức hợp phối tử - protein bằng cách sử dụng một trường lực (force field).
- Hàm số dựa trên thực nghiệm (empirical-based functions): sử dụng các dữ liệu về ái lực đo trên thực nghiệm để ước lượng năng lượng liên kết.
- Hàm số dựa trên kiến thức (knowledge-based functions): dựa trên các phân tích thống kê từ các cơ sở dữ liệu lớn các phức hợp protein - phối tử (Cambridge Structural Database hay Protein Data Bank) để dự đoán các tương tác có lợi giữa các nhóm chức.

Mỗi loại hàm số trên có các ưu điểm và khuyết điểm riêng do đó kết hợp nhiều hàm số khác nhau có thể cải thiện kết quả docking. Một số phần mềm docking thường được sử dụng là AutoDock, DOCK, FlexX, Glide, GOLD và ICM. Hình 4.19 minh họa ví dụ thuật toán sử dụng cho docking của phần mềm DOCK.



Hình 4.19. Thuật toán trong DOCK. Quá trình docking bao gồm các bước chính: (1) xác định các vị trí tương tác trong túi gắn kết trên đích tác động, biểu diễn bằng tập hợp các hình cầu, (2) khớp (match) các vị trí này với cấu trúc các hợp chất trong các cơ sở dữ liệu, (3) cho điểm và xếp hạng các cấu dạng tìm thấy trong quá trình docking dựa trên khả năng bổ sung (complementary) với bề mặt tương tác trên protein [10]

4.2. Thiết kế thuốc dựa trên phối tử (Ligand-based drug design-LBDD)

Trong trường hợp cấu trúc 3D thực nghiệm của đích tác động không có sẵn, thông tin thu thập từ tập hợp các chất có hoạt tính sinh học trên một đích tác động nhất định (thụ thể, enzyme) có thể được sử dụng để xác định các đặc điểm cấu trúc và hóa lý quan trọng (hay các thông số mô tả phân tử - molecular descriptors) chịu trách nhiệm cho hoạt tính sinh học. Ở đây có giả định rằng các hợp chất có cấu trúc tương tự sẽ biểu thị hoạt tính sinh học và tương tác tương tự với đích tác động. Các phương pháp phổ biến được sử dụng trong thiết kế thuốc dựa trên phối tử (LBDD) là thiết lập mối quan hệ định lượng giữa cấu trúc và tác dụng (quantitative structure-activity relationships-QSAR) và các phương pháp dựa trên pharmacophore.

4.2.1. Quan hệ định lượng giữa cấu trúc và tác dụng (QSAR)

Các nghiên cứu QSAR dựa trên tiên đề rằng những thay đổi trong hoạt tính sinh học có liên quan đến những thay đổi về cấu trúc phân tử trong một tập hợp các hợp chất. Một mô hình mang tính thống kê được xây dựng từ mối tương quan này và được sử dụng dự đoán hoạt tính sinh học của các hợp chất mới. Để xây dựng một mô hình QSAR đáng tin cậy, một số yêu cầu sau cần được đáp ứng:

- Có số lượng thích hợp các hợp chất với hoạt tính sinh học thực nghiệm (ít nhất 20 chất), đồng thời giá trị hiệu lực của các hợp chất này có thể so sánh được với nhau (ví dụ như được thu thập từ cùng một quy trình thử sinh học).

- Lựa chọn các hợp chất thích hợp cho tập huấn luyện (training set) và tập kiểm tra (test set).
- Các thông số mô tả phân tử (molecular descriptors) không mang tính tự tương quan (autocorrelation).
- Mô hình cần được đánh giá (validate) để xác định khả năng ứng dụng và dự đoán.

Bảng 4.7 liệt kê một số công cụ thường được sử dụng cho nghiên cứu QSAR.

Bảng 4.7. Một số chương trình sử dụng cho tính toán các thông số mô tả phân tử hay QSAR [9]

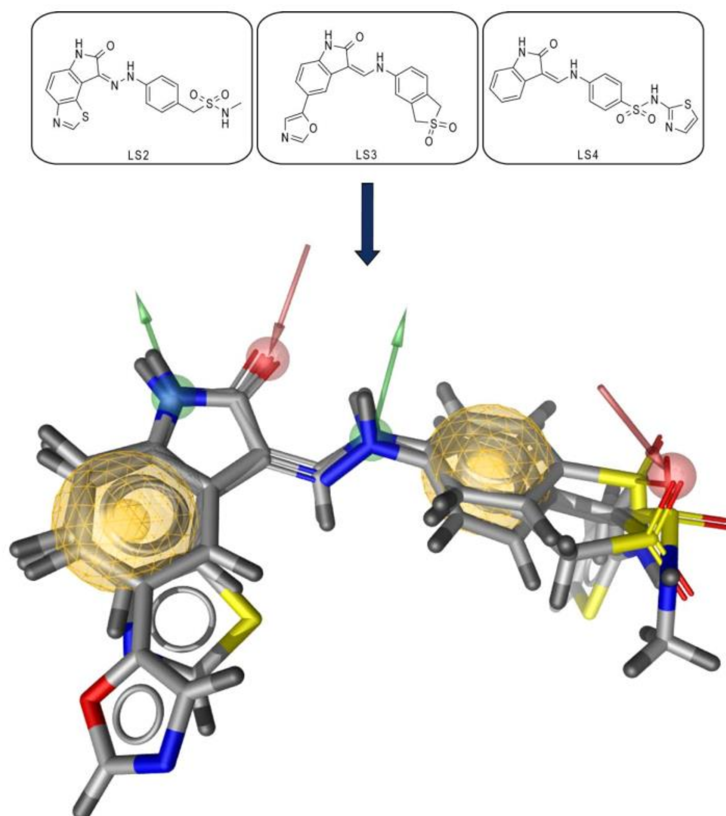
Function	Program/server	Free/commercial	Description	Institute/company	Websites
QSAR	McQSAR (Vainio and Johnson 2005)	Free	Uses genetic function approximation paradigm	Åbo Akademi University	http://users.abo.fi/mivainio/mcqsar/index.php
	SYBYL-X	Commercial	Includes modeling and QSAR packages (CoMFA, HQSAR and Topomer CoMFA)	Tripos International	http://www.certara.com/products/molmod/sybyl-x/qsar/
	MOLFEAT	Free	Computes molecular fingerprints and descriptors derived from published QSAR models	National University of Singapore	http://jing.cz3.nus.edu.sg/cgi-bin/molfeat/molfeat.cgi
	Open3DQSAR	Free	Generates chemometric analysis of molecular interaction fields (MIFs)	University of Turin	http://open3dqsar.sourceforge.net/
	E-Dragon	Free	Computes molecular descriptors for structure–activity or structure–property relationship studies	Helmholtz Zentrum Muenchen Institute of Structural Biology	http://www.vcclab.org/lab/edragon/

Các thông số mô tả phân tử đóng vai trò cốt lõi trong các nghiên cứu QSAR và biểu diễn các mức độ khác nhau trong cấu trúc hóa học của các hợp chất, từ công thức phân tử (1D), đến cấu trúc hai chiều (2D) hay trong không gian ba chiều (3D). Phương pháp phân tích trường phân tử so sánh (comparative molecular field analysis -CoMFA) là một trong những phương pháp 3D-QSAR được sử dụng rộng rãi nhất. Đồng thời, một số phương pháp được phát triển gần đây có thể kể đến là Topomer CoMFA, S-SAR, AFMoC và CoRIA. Mặc dù mang lại một số thành công nhất định, 3D-QSAR vẫn còn nhiều thiếu sót và có thể được cải thiện bằng các chiến lược QSAR đa chiều tiên tiến hơn được gọi là 4D, 5D hay 6D-QSAR. 4D-QSAR được phát triển với các thông số xem xét đến cấu dạng và định hướng của phối tử trong vị trí gắn kết, trong khi 5D-QSAR kết hợp các thông số liên quan đến tính linh động cấu trúc của thụ thể và 6D-QSAR xem xét đến hiệu ứng solvat hóa.

4.2.2. Mô hình pharmacophore

Thiết kế thuốc thông qua sử dụng mô hình pharmacophore dựa trên giả thuyết rằng các hợp chất dù với khung cấu trúc khác nhau nhưng mang các nhóm có khả năng tương tác với định hướng tương tự trong không gian sẽ có hoạt tính sinh học tương tự trên một đích tác động cụ thể. Mô hình pharmacophore là tập hợp trong không gian các đặc tính

quan trọng trong tương tác với đích tác động như: nhóm cho liên kết hydro, nhóm nhận liên kết hydro, vùng kị nước, nhóm tích điện dương và âm, nhóm liên kết với kim loại. Thông thường, các bước xây dựng mô hình pharmacophore bao gồm: (1) lựa chọn một tập hợp các hợp chất có hoạt tính trên một đích tác động cụ thể (với cùng vị trí gắn kết), (2) phân tích cấu dạng của các hợp chất này, (3) xác định các nhóm cấu trúc đóng vai trò quan trọng trong tương tác (pharmacophoric feature), (4) chồng phủ (superimposition) cấu dạng các hợp chất trong không gian để xác định mô hình 3D-pharmacophore (Hình 4.20). Một số công cụ thường được sử dụng để xây dựng mô hình pharmacophore bao gồm: Catalyst, PHASE, LigandScout và MOE.



Hình 4.20. Ví dụ mô hình pharmacophore được tạo bởi chương trình LigandScout từ bộ ba chất ức chế CDK2 (LS2, LS3, LS4). Hình cầu màu vàng: vùng kỵ nước, mũi tên màu đỏ: nhóm nhận liên kết hydro, mũi tên màu xanh lá cây: nhóm cho liên kết hydro [11]

4.3. Dự đoán các đặc tính dược động học và độc tính (ADMET)

Như đề cập đến ở trên, các vấn đề về dược động học và độc tính ngày càng được xem xét trong giai đoạn sớm nhằm hạn chế tỷ lệ thất bại trong quá trình phát triển thuốc. Tuy nhiên, việc đánh giá thực nghiệm các đặc tính này thường tốn nhiều thời gian và tiền bạc. Do đó, để nhanh chóng đánh giá đặc tính có thể dùng làm thuốc của các chất khởi nguồn,

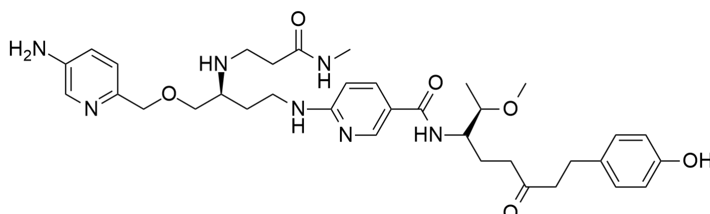
quá trình sàng lọc ảo có thể được sử dụng để loại bỏ một phần các chất có thể mang các đặc tính không mong muốn. Tương tự như QSAR, việc sàng lọc *in silico* các đặc tính ADMET cũng sử dụng các thông số mô tả phân tử. Một số công cụ dự đoán ADMET được giới thiệu trong Bảng 4.8. Đối với vấn đề chuyển hóa chất, các mô hình dự đoán khả năng bị chuyển hóa bởi cytochrome như SMARTCyp và MetaSite có thể được áp dụng.

Bảng 4.8. Một số chương trình giúp dự đoán các đặc tính ADMET [9]

Function	Program/server	Free/commercial	Description	Institute/company	Websites
ADMET properties	QikProp	Commercial	Rapid identification of ADME properties of drug candidates	Schrödinger	http://www.schrodinger.com/
	ADMET predictor	Commercial	Estimates the number of ADMET properties from query molecular structure	Simulations Plus, Inc.	http://www.simulations-plus.com/Products.aspx?grpID=1&cID=11&pID=13
	ADMET and predictive toxicology	Commercial	Predicts ADMET properties	Biovia (formerly Accelrys)	http://accelrys.com/products/discovery-studio/admet.html
	FAF-Drugs2	Free	Subjects compounds to in silico ADMET filters	University of Paris Diderot	http://www.mti.univ-paris-diderot.fr/recherche/plateformes/logiciels#

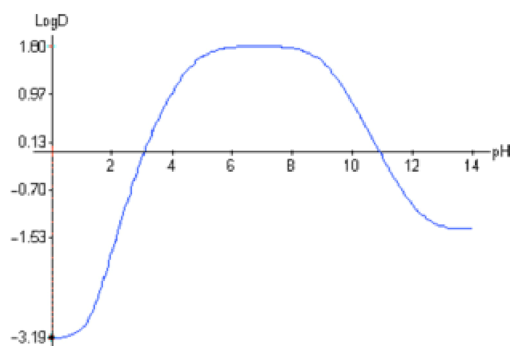
Câu hỏi tự lượng giá

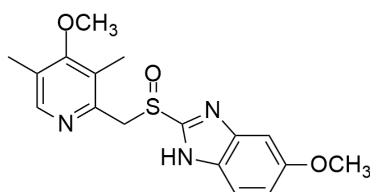
1. Dự đoán sinh khả dụng đường uống của hợp chất dưới đây. Giải thích?



2. Tại sao log D của một số hợp chất thay đổi theo pH nhưng không đổi đối với một số hợp chất khác?

   Giải thích sự thay đổi log D của omeprazole theo pH minh họa trong hình dưới đây?





Omeprazole

3. Trong thiết kế thuốc với sự hỗ trợ của máy tính, khi sử dụng cấu trúc kết tinh protein của đích tác động không liên kết với phối tử (ligand), những vấn đề nào có thể xảy ra?

Danh mục từ viết tắt

ADME: absorption, distribution, metabolism, excretion

ADMET: absorption, distribution, metabolism, excretion, toxicity

BBB: blood-brain barrier

CADD: computer-aided drug design

CNS: central nervous system

CoMFA: comparative molecular field analysis

EM: cryogenic electron microscopy

FBLD: fragment-based lead discovery

HBA: hydrogen bond acceptor

HBD: hydrogen bond donor

HTOS: high-throughput organic synthesis

HTS: high-throughput screening

LBDD: ligand-based drug design

LE: ligand efficiency

MD: molecular dynamic

MPO: multi-parameter optimization algorithm

NMEs: new molecular entities

QSAR: quantitative structure-activity relationship

SAR: structure-activity relationship

SBDD: structure-based drug design

SPR: surface plasmon resonance

TI: therapeutic index

TPSA: topological polar surface area

VS: virtual screening

Tài liệu tham khảo

1. Silverman RB, Holladay MW. The organic chemistry of drug design and drug action. Third edition. Amsterdam; Boston: Elsevier/AP; 2014.

2. Stromgaard K, Krogsgaard-Larsen P, Madsen U, editors. Textbook of Drug Design and Discovery. CRC Press; 2016.

3. Wermuth CG, Aldous DJ, Raboisson P, Rognan D. The practice of medicinal chemistry. 4th edition. London: Elsevier Academic Press; 2015.

4. Di L, Kerns EH. Drug-like properties: concepts, structure design and methods: from ADME to toxicity optimization. Second edition. Amsterdam; Boston: Elsevier/AP; 2016.

5. Hann MM, Leach AR, Harper G. Molecular Complexity and Its Impact on the Probability of Finding Leads for Drug Discovery. J Chem Inf Comput Sci. 2001 May 1; 41(3):856-864.

6. Lamoree B, Hubbard RE. Current perspectives in fragment-based lead discovery (FBLD). van Montfort RLM, Workman P, editors. Essays in Biochemistry. 2017 Nov 8; 61(5):453-464.

7. Wassermann AM, Wawer M, Bajorath J. Activity Landscape Representations for Structure-Activity Relationship Analysis. J Med Chem. 2010 Dec 9; 53(23):8209-8223.

8. Agrafiotis DK, Shemanarev M, Connolly PJ, Farnum M, Lobanov VS. SAR Maps: A New SAR Visualization Technique for Medicinal Chemists. J Med Chem. 2007 Nov 1; 50(24):5926-5937.

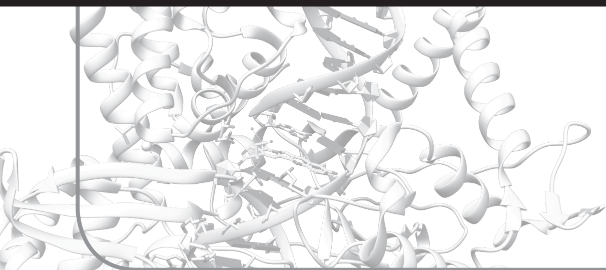
9. Macalino SJY, Gosu V, Hong S, Choi S. Role of computer-aided drug design in modern drug discovery. Arch Pharm Res. 2015 Sep; 38(9):1686-1701.

10. Chen GS, Chern J-W. Computer-Aided Drug Design. In: Huang Z, editor. Drug Discovery Research. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.; 2007. pp.89-107.
11. Seidel T, Ibis G, Bendix F, Wolber G. Strategies for 3D pharmacophore-based virtual screening. Drug Discovery Today: Technologies. 2010 Dec;7(4): e221-8.

Phần II

CÁC NHÓM HÓA DƯỢC

Chương 5



THUỐC KHÁNG SINH

Nguyễn Kim Anh - Huỳnh Thị Ngọc Phương

Khưu Mỹ Lệ

5.1. TỔNG QUAN

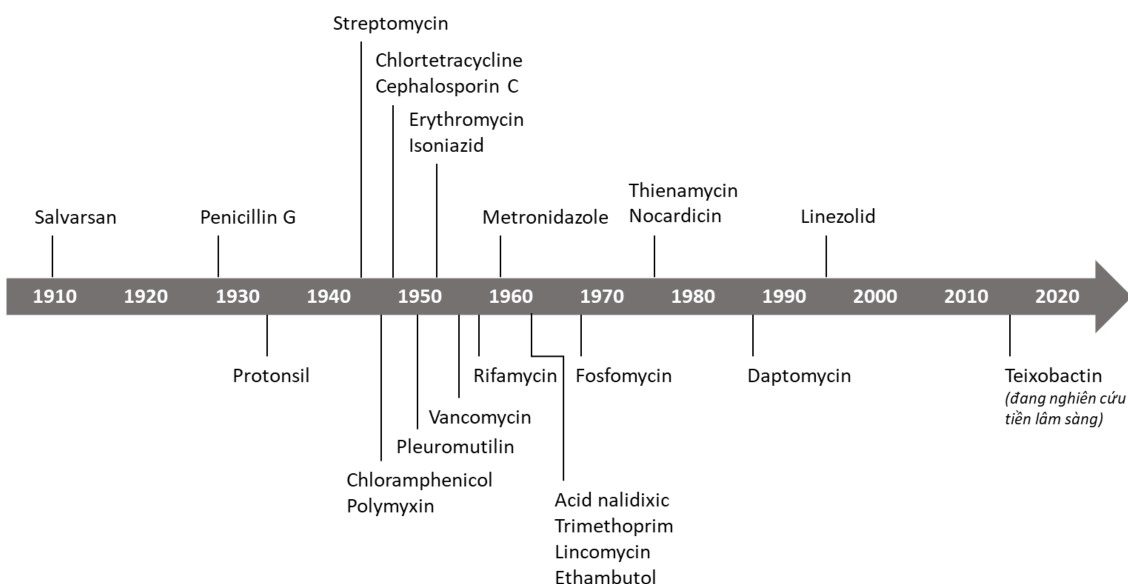
1. BỆNH NHIỄM TRÙNG VÀ LỊCH SỬ THUỐC KHÁNG SINH

Bệnh nhiễm trùng (infection) xảy ra khi mầm bệnh xâm nhập vào cơ thể, phát triển về số lượng và gây ra phản ứng của cơ thể đối với sự xâm nhập này [1]. Bệnh nhiễm trùng có thể gây ra bởi vi khuẩn, virus, nấm, ký sinh trùng hoặc prion.

Theo định nghĩa của Tổ chức Y tế Thế giới - World Health Organization (WHO), thuốc kháng sinh (antibiotics/antibacterials) được dùng để phòng ngừa và điều trị các bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn [2]. Cục quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ - U.S. Food and Drug Administration (FDA) nhấn mạnh: thuốc kháng sinh **không có hiệu quả** chống lại các bệnh truyền nhiễm do **virus** gây ra như cảm lạnh, cúm và đa số các ca viêm họng [3].

Vi khuẩn được Antoni van Leeuwenhoek lần đầu tiên quan sát được năm 1676. Hai thế kỷ tiếp theo là thời gian con người tìm hiểu về thế giới vi sinh vật và tìm ra mối liên hệ giữa chúng với các bệnh truyền nhiễm. Mãi đến năm 1910, nhờ thử nghiệm sàng lọc các hợp chất hữu cơ được tổng hợp trong phòng thí nghiệm trên vi khuẩn *Treponema pallidum,* Paul Erhlich tìm ra thuốc kháng sinh đầu tiên Salvarsan điều trị bệnh giang mai. Phương pháp nghiên cứu thuốc của Erhlich giúp khai sinh ra ngành hóa trị liệu và mở đầu thời đại kháng sinh (antibiotic era).

Thập niên 40 đến 60 của thế kỷ XX là thời kỳ hoàng kim của quá trình khám phá các kháng sinh có cấu trúc mới (Hình 5.1.1). Tiếp đó là thời kỳ tối ưu hóa cấu trúc các cấu trúc sẵn có. Tuy nhiên, số kháng sinh có cấu trúc đột phá và có cơ chế kháng khuẩn mới ngày càng hiếm hoi [4].



Hình 5.1.1. Cột mốc thời gian (tóm lược) đánh dấu sự ra đời của thuốc kháng sinh có cấu trúc hoàn toàn mới (first-in-class) [4,5]

(Protonsil: nhóm sulfonamide; Streptomycin: nhóm aminoglycoside; Erythromycin: nhóm macrolide; Metronidazole: nhóm nitroimidazole; Nalidixic acid: nhóm quinolone; Lincomycin: nhóm lincosamide; Thienamycin: nhóm carbapenem; Nocardicin: nhóm monobactam; Linezolid: nhóm oxazolidinone).

2. PHÂN LOẠI KHÁNG SINH

Phân loại theo nguồn gốc

- Kháng sinh có nguồn gốc tự nhiên (penicillin G, kanamycin,...) được sản xuất bởi các vi sinh vật như nấm *Penicillium,* vi khuẩn thuộc chi *Streptomyces* sinh sống trong đất,...
- Kháng sinh bán tổng hợp (amoxicillin, amikacin,...) được sản xuất bằng tổng hợp hóa học từ các nguyên liệu có nguồn gốc tự nhiên.
- Kháng sinh được tổng hợp hóa học toàn phần (nhóm sulfonamide, nhóm quinolone,...).

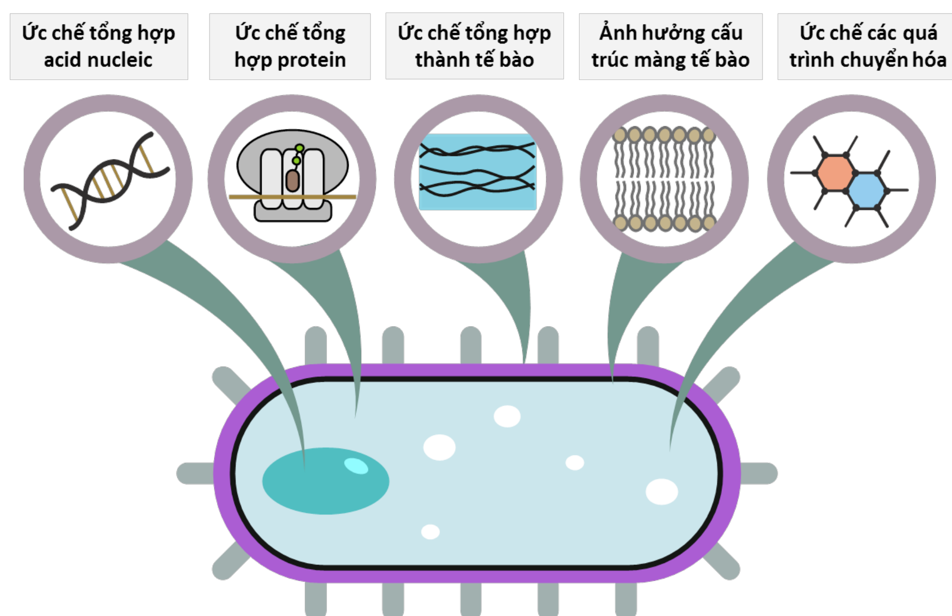
Phân loại theo cấu trúc chung

Các kháng sinh thường được phân loại vào các nhóm/họ theo cấu trúc chung như nhóm β-lactam, nhóm aminoglycoside, nhóm glycopeptide, nhóm macrolide, nhóm sulfonamide, nhóm quinolone,...

Phân loại theo cơ chế tác dụng [6]

Các kháng sinh được chia làm 5 cơ chế tác dụng chính (Hình 5.1.2):

- Kháng sinh ức chế quá trình tổng hợp thành (vách) tế bào (β-lactam, glycopeptide, fosfomycin).
- Kháng sinh ảnh hưởng đến cấu trúc màng tế bào (colistin, polymycin B, daptomycin).
- Kháng sinh ức chế quá trình tổng hợp protein (aminoglycoside, macrolide, phenicol, lincosamide, oxazolidinone, pleuromutilin).
- Kháng sinh ức chế quá trình tổng hợp nucleic acid (DNA: quinolone; RNA: rifamycin).
- Kháng sinh ức chế các quá trình chuyển hóa của vi khuẩn (sulfonamide, trimethoprim).



Hình 5.1.2. Phân loại kháng sinh theo cơ chế tác dụng

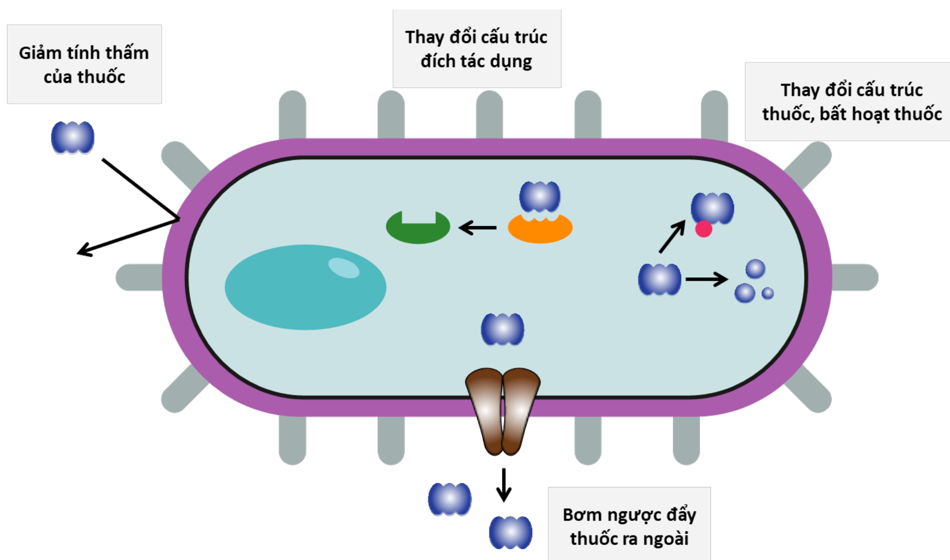
3. TÌNH TRẠNG ĐỀ KHÁNG KHÁNG SINH CỦA VI KHUẨN

Sự đề kháng kháng sinh (antibiotic resistance) là khả năng vi khuẩn tồn tại và phát triển ngay cả khi có sự hiện diện của một hay nhiều thuốc kháng sinh ở nồng độ trị liệu. Một số vi khuẩn có khả năng **đề kháng tự nhiên** với kháng sinh (ví dụ như penicillin G không có tác dụng trên vi khuẩn gram âm). Một loại đề kháng khác, **đề kháng thụ nhận** là kết quả của quá trình chọn lọc theo thời gian của vi khuẩn khi tiếp xúc với thuốc tạo

những chủng kháng thuốc. Loại đề kháng này là do vi khuẩn đột biến gen hoặc nhận được gen đề kháng từ vi khuẩn khác. Quá trình này được đẩy nhanh tốc độ khi kháng sinh bị **lạm dụng** và **không được sử dụng đúng cách**.

Cơ chế đề kháng kháng sinh được chia thành 3 nhóm chính (Hình 5.1.3):

- Ngăn cản kháng sinh vào trong tế bào: sản xuất bơm ngược, giảm sản xuất porin ở màng ngoài tế bào vi khuẩn, tạo màng sinh học (biofilm).
- Đột biến thay đổi đích tác dụng của kháng sinh (ví dụ: xem cơ chế đề kháng vancomycin, cơ chế đề kháng aminoglycoside).
- Sản xuất enzyme thủy phân/thay đổi cấu trúc thuốc làm bất hoạt thuốc (ví dụ: xem cơ chế đề kháng β-lactam và cơ chế đề kháng aminoglycoside) [7].



Hình 5.1.3. Các cơ chế đề kháng kháng sinh chính

Năm 2014, Tổ chức Y tế Thế giới - World Health Organization (WHO), phát hành một báo cáo về tình trạng đề kháng kháng sinh ở 129 quốc gia nhằm cho thấy mức độ và độ lan rộng của vấn nạn này trên toàn thế giới. WHO cảnh báo: "**thời đại hậu kháng sinh (post-antibiotic era)** là lúc những bệnh nhiễm khuẩn thông thường và các vết thương nhỏ có thể gây nguy hiểm đến tính mạng...và chúng ta đang tiến đến rất gần thời kỳ đó" [5].

Trong một báo cáo khác năm 2017, WHO chỉ ra các loại vi khuẩn cần đặc biệt chú trọng trong quá trình nghiên cứu - phát triển thuốc mới:

Bảng 5.1.1. Phân loại vi khuẩn theo các mức độ ưu tiên trong nghiên cứu - phát triển thuốc mới [8]

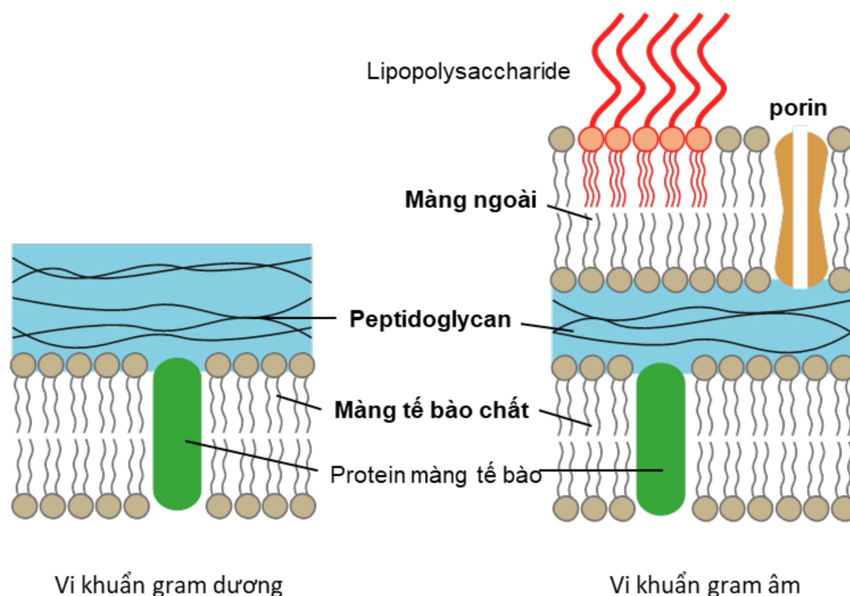
Mức độ ưu tiên	Vi khuẩn	Tình trạng đề kháng	Bệnh gây ra
Nguy cấp	*Mycobacterium tuberculosis*	MDR-TB và XDR-TB*	Bệnh lao
	Acinetobacter baumannii	Kháng carbapenem	Viêm phổi do ống thở, nhiễm trùng huyết, nhiễm trùng vết thương
	Pseudomonas aeruginosa	Kháng carbapenem	Viêm phổi ở người suy giảm miễn dịch, nhiễm khuẩn bệnh viện
	Enterobacteriaceae (*Escherichia coli*, *Enterobacter* spp. *Klebsiella* spp.,...)	Kháng carbapenem và cephalosporin thế hệ 3	Nhiễm khuẩn đường tiết niệu (cộng đồng/bệnh viện), nhiễm khuẩn huyết bệnh viện, viêm phổi do ống thở
Cao	*Enterococcus faecium*	Kháng vancomycin	Nhiễm khuẩn bệnh viện, nguy hiểm ở người suy giảm miễn dịch
	Helicobacter pylori	Kháng clarithromycin	Viêm loét dạ dày - tá tràng
	Samonella spp.	Kháng fluoroquinolone	Viêm đường tiêu hóa, bệnh thương hàn
	Staphylococcus aureus	Kháng methicillin và kháng vancomycin	Nhiễm khuẩn bệnh viện, nhiễm trùng da và mô mềm trong cộng đồng
	Campylobacter spp.	Kháng fluoroquinolone	Tiêu chảy cấp
	Neisseria gonorrhoeae	Kháng fluoroquinolone và cephalosporin thế hệ 3	Bệnh lậu
Trung bình	*Streptococcus pneumoniae*	Kháng penicillin	Viêm phổi ở trẻ em
	Haemophilus influenzae	Kháng ampicillin	Viêm màng não trẻ em
	Shigella spp.	Kháng fluoroquinolone	Viêm dạ dày ruột, lỵ trực khuẩn

* MDR-TB - multidrug-resistant tuberculosis (vi khuẩn lao đa kháng thuốc) kháng isoniazid và rifampicin; XDR-TB - extensively drug-resistant tuberculosis, là MDR-TB kháng thêm fluoroquinolone và thuốc kháng lao hàng thứ 2.

Khuyến nghị của WHO thể hiện mức độ trầm trọng của tình trạng đề kháng kháng sinh, đồng thời, thể hiện sự khó khăn trong quá trình nghiên cứu kháng sinh mới, dẫn đến sự e dè và thậm chí là thờ ơ của các hãng dược. Thuốc kháng sinh chỉ được sử dụng trong thời gian ngắn nên không có lợi nhuận cao như các thuốc trị bệnh mạn tính (ví dụ như bệnh đái tháo đường, tăng lipid máu, tăng huyết áp,...). Tình trạng đề kháng thuốc sau một thời gian ngắn thuốc được sử dụng càng làm giảm doanh thu. Về mặt khoa học, trong những thập niên gần đây, các kháng sinh mới đa phần có khung cấu trúc và đích tác dụng đã được biết đến. Các kháng sinh có cơ chế hoàn toàn mới xuất hiện ngày càng ít và đòi hỏi đầu tư các phương pháp nghiên cứu mới [9].

4. MỘT SỐ KHÁI NIỆM

- **Vi khuẩn gram âm/dương:** phần lớn vi khuẩn được chia làm hai nhóm gram âm và gram dương dựa vào cấu tạo thành tế bào. Thành tế bào vi khuẩn gram dương có lớp peptidoglycan dày; lipid chiếm tỷ lệ rất thấp. Trong khi đó, thành tế bào vi khuẩn gram âm chỉ có một lớp peptidoglycan mỏng, đặc biệt có thêm lớp màng ngoài (outer membrane) (Hình 5.1.4). Sự khác biệt này dẫn đến khả năng thấm khác nhau của kháng sinh qua lớp thành tế bào của hai loại vi khuẩn.



Hình 5.1.4. Cấu tạo thành tế bào vi khuẩn gram dương và gram âm

- **Nồng độ ức chế tối thiểu** - Minimum Inhibitory Concentration (MIC) là nồng độ tối thiểu của kháng sinh có tác dụng ức chế sự phát triển của một chủng vi khuẩn nhất định. **Nồng độ diệt khuẩn tối thiểu** - Minimum Bactericidal Concentration (MBC) là nồng độ tối thiểu để giết 99.9% lượng vi khuẩn ban đầu. MIC_{90} và MIC_{50} là MIC của kháng sinh có thể ức chế 90% và 50% số mẫu phân lập (isolates) của cùng một loài vi

khuẩn. MIC và MBC là các thông số được sử dụng để xác định hoạt tính kháng khuẩn *in vitro* đối với một chủng vi khuẩn cụ thể [10].

- Kháng sinh diệt khuẩn (bactericidal) và kháng sinh kìm khuẩn (bacteriostatic)

Kháng sinh diệt khuẩn có khả năng giết chết vi khuẩn và không có sự thuận nghịch, nghĩa là vi khuẩn không thể sống lại ngay cả khi không còn kháng sinh. Có thể xác định nồng độ kháng sinh diệt khuẩn *in vitro* (MBC). Nếu những nồng độ như thế có thể sử dụng trên bệnh nhân, những kháng sinh này được xếp vào loại kháng sinh diệt khuẩn về mặt lâm sàng. Ở những nồng độ thấp hơn một chút, sự tăng trưởng của vi khuẩn bị ngăn cản mặc dù vi khuẩn vẫn còn sống (tác động kìm khuẩn). Sự khác nhau giữa liều diệt khuẩn tối thiểu (MBC) và liều kìm khuẩn (MIC) là đặc điểm của những họ kháng sinh. Ví dụ với gentamicin tăng liều gấp đôi hoặc gấp 4 lần sẽ thay đổi tác động từ kìm khuẩn sang diệt khuẩn. Những liều như thế thường có thể thực hiện được trong lâm sàng, vì vậy gentamicin được gọi là kháng sinh diệt khuẩn. Khi tỷ lệ MBC/MIC từ 1- 4, kháng sinh thường có tác dụng diệt khuẩn [10].

Kháng sinh kìm khuẩn chỉ ức chế sự nhân lên của vi khuẩn ở liều sử dụng. Ví dụ, tetracyclin có liều MBC lớn gấp 40 lần MIC nên không thể sử dụng liều diệt khuẩn một cách an toàn cho bệnh nhân, do vậy ở liều sử dụng trên lâm sàng kháng sinh này chỉ có tác dụng kìm khuẩn. Thông thường, khi tỷ lệ MBC/MIC > 4, kháng sinh có tác dụng kìm khuẩn. Một tác nhân kìm khuẩn sẽ cản trở sự phát triển nhanh chóng của vi khuẩn và hệ miễn dịch của cơ thể sẽ hỗ trợ để tiêu diệt vi khuẩn.

Tài liệu tham khảo

1. https://www.cdc.gov/infectioncontrol/index.html
2. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance
3. https://www.fda.gov/drugs/buying-using-medicine-safely/antibiotics-and-antibiotic-resistance
4. Hutchings M, Truman AW, Wilkinson B. Antibiotics: past, present and future. Curr Opin Microbiol. 2019 Nov; 51:72-80.
5. Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014. WHO.
6. Coates A, Hu Y, Bax R, Page C. The future challenges facing the development of new antimicrobial drugs. Nat Rev Drug Discov. 2002 Nov; 1(11):895-910.
7. Blair JMA, Webber MA, Baylay AJ, Ogbolu DO, Piddock LJV. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. Nat Rev Microbiol. 2015 Jan; 13(1):42-51.
8. Prioritization of pathogens to guide discovery, research and development of new antibiotics for drug resistant bacterial infections, including tuberculosis. 2017. WHO.
9. Spellberg B. The future of antibiotics. Crit Care. 2014 June; 18(228).
10. Hướng dẫn sử dụng kháng sinh - Bộ Y tế. Nhà xuất bản Y học. 2015.

5.2. NHÓM BETA-LACTAM (β-LACTAM)

Các hoạt chất được đề cập

Kháng sinh β-lactam nhóm penicillin

Penicillin G	Dicloxacillin	Sulbenicillin
Penicillin V	Ampicillin	Azlocillin
Benzathine penicillin G	Bacampicillin	Mezlocillin
Procain penicillin G	Pivampicillin	Piperacillin
Methicillin	Amoxicillin	Temocillin
Nafcillin	Carbenicillin	Mecillinam
Oxacillin	Carbenicillin indanyl	Pivmecillinam
Cloxacillin	Ticarcillin	

Kháng sinh β-lactam nhóm cephalosporin

Cephalothin	Cefaclor	Ceftazidime
Cephaloridine	Cefprozil	Ceftolozane
Cephalexin	Cefsulodin	Cefepime
Cefadroxil	Cefoperazone	Cefquinome
Cefoxitin	Cefotiam	Cefozopran
Cefotetan	Cefotaxime	Cefpirome
Cefmetazole	Ceftriaxone	Ceftaroline fosamil
Cefuroxime	Cefdinir	Ceftobiprole medocaril
Cefuroxime axetil	Cefixime	Cefiderocol

Kháng sinh β-lactam nhóm carbapenem

Imipenem/cilastatin
Meropenem
Doripenem
Ertapenem
Terbipenem

Kháng sinh β-lactam nhóm monobactam

Aztreonam

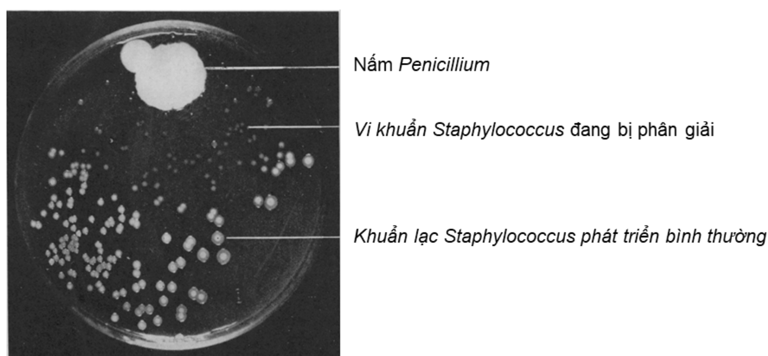
Thuốc ức chế β-lactamase

Clavulanic acid	Vaborbactam	Durlobactam
Sulbactam	Taniborbactam	Nacubactam
Tazobactam	Avibactam	Zidebactam
Enmetazobactam	Relebactam	

1. GIỚI THIỆU - LỊCH SỬ PHÁT TRIỂN

Kháng sinh β-lactam là nhóm kháng sinh lớn nhất và được sử dụng nhiều nhất, chiếm trên 60% thuốc kháng sinh đường tiêm được sử dụng tại Mỹ (2004-2014) [1]. Tất cả được bắt đầu từ một đĩa petri cấy vi khuẩn trong phòng thí nghiệm vi sinh của bệnh viện St Mary tại Luân Đôn, nơi Alexander Fleming làm việc.

Năm 1928, Fleming tình cờ phát hiện khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn *Staphylococcus* của nấm mốc *Penicillium notatum* trên đĩa petri nuôi cấy vi khuẩn (Hình 5.2.1). Ông cho rằng nấm *Penicillium* đã tiết một chất kháng khuẩn ra môi trường xung quanh nên ông đặt tên cho hợp chất này là penicillin. Năm 1929, Fleming công bố nghiên cứu của mình trên tạp chí *The British Journal of Experimental Pathology* [2]. Tuy nhiên, Fleming thất bại trong việc phân lập và xác định cấu trúc của penicillin.



Hình 5.2.1. Vi khuẩn *Staphylococcus* bị ức chế ở xung quanh nơi có nấm *Penicillium* phát triển [2]

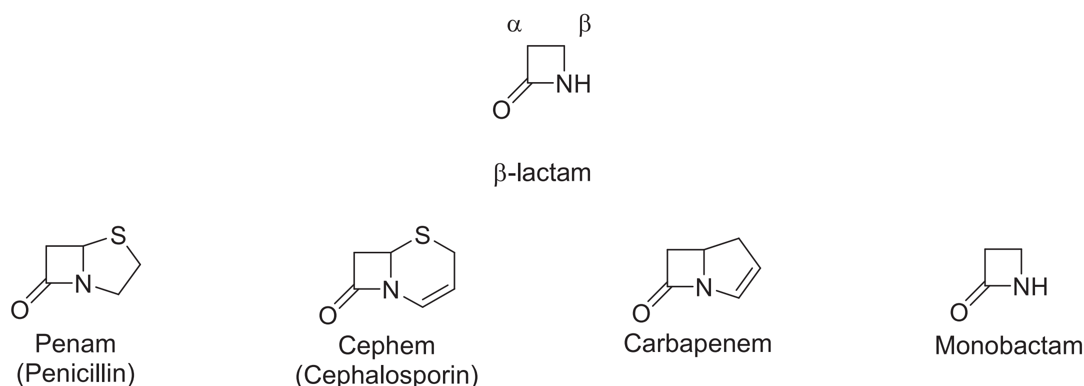
Mãi cho đến những năm 1940, tiềm năng dùng làm kháng sinh điều trị các bệnh nhiễm trùng của penicillin mới thu hút sự chú ý, sau khi bài báo trình bày kết quả thử nghiệm penicillin trên động vật của Ernst Boris Chain, Howard Walter Florey và cộng sự được đăng trên tạp chí *Lancet* [3]. Hai nhà khoa học này cũng góp công lớn trong việc sản xuất, tinh chế, phân lập, thử nghiệm trên người và xác định cấu trúc hóa học của penicillin.

Giải Nobel Y học năm 1945 được trao cho Alexander Fleming, Ernst Boris Chain và Howard Walter Florey để ghi nhận công lao của họ trong nghiên cứu về penicillin, mở ra một kỷ nguyên nghiên cứu và phát triển các dẫn xuất của penicillin, tạo thành họ kháng sinh β-lactam.

2. CẤU TRÚC CHUNG - PHÂN LOẠI

Lactam là tên gọi của các amide vòng. Vòng β-lactam là vòng 4 cạnh, là sản phẩm đóng vòng của β-amino acid (nhóm amino gắn với C_β), có danh pháp IUPAC là azetidin-2-one.

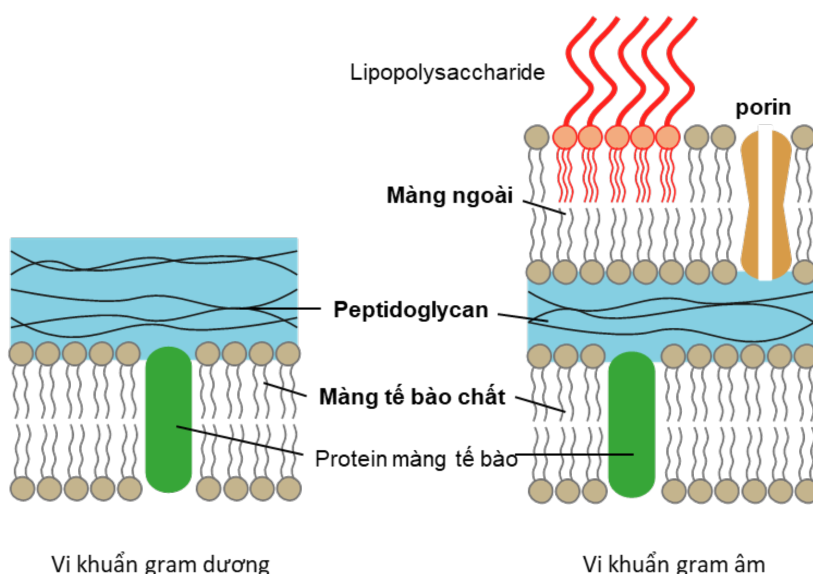
Kháng sinh có vòng β-lactam được chia làm 4 nhóm: penam (hay còn gọi là nhóm penicillin), cephem (hay còn gọi là nhóm cephalosporin), carbapenem và monobactam, dựa trên cấu trúc vòng bicyclic gắn với vòng β-lactam (Hình 5.2.2).



Hình 5.2.2. Cấu trúc vòng β-lactam và các nhóm kháng sinh β-lactam

3. CƠ CHẾ TÁC DỤNG

Peptidoglycan tham gia cấu tạo thành tế bào vi khuẩn (Hình 5.2.3), có cấu trúc polymer gồm các chuỗi glycan được nối với nhau thành mạng lưới bằng các cầu nối peptide. Cấu trúc cứng cáp này bao bọc bên ngoài màng sinh chất và giúp thành tế bào giữ được hình dạng và chịu được áp lực thẩm thấu bên trong tế bào. Cấu trúc thành tế bào nói chung và peptidoglycan nói riêng chỉ có ở vi khuẩn mà không tồn tại ở tế bào động vật nên là đích tác dụng tốt cho các thuốc kháng sinh.

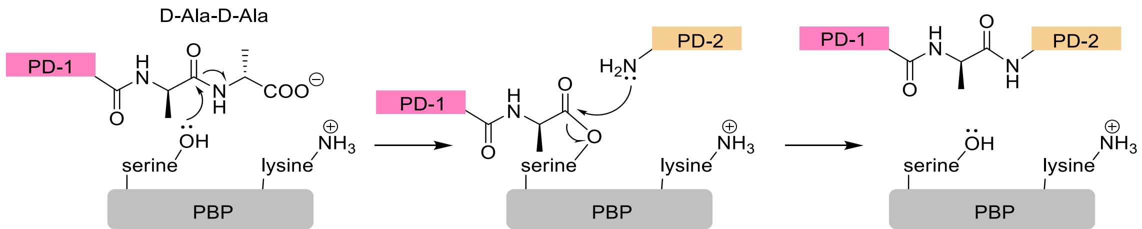


Hình 5.2.3. Cấu tạo thành tế bào vi khuẩn

Đích tác dụng của kháng sinh họ β-lactam là một nhóm các enzyme tham gia vào bước cuối cùng của quá trình tổng hợp peptidoglycan. Các enzyme này được gọi chung là PBP (Penicillin-Binding Protein). Kháng sinh họ β-lactam ức chế PBP dẫn đến ức chế quá trình tổng hợp peptidoglycan làm thành tế bào yếu đi, dẫn đến ly giải tế bào.

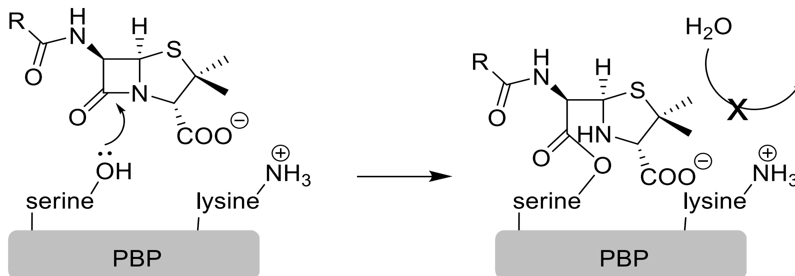
Các PBP thuộc họ acyl serine transferase, nằm bên ngoài màng sinh chất của vi khuẩn, thực hiện phản ứng chuyển vị peptide (transpeptidation):

- Bước 1: Serine tại trung tâm xúc tác của PBP đóng vai trò như một nucleophile tấn công liên kết amide giữa D-Ala-D-Ala đầu C của chuỗi peptidoglycan thứ nhất (PD-1), giải phóng một D-Ala.
- Bước 2: Một nhóm amino của chuỗi peptidoglycan thứ hai (PD-2) tấn công liên kết mới được tạo thành giữa serine và D-Ala để tạo thành liên kết peptide mới (Hình 5.2.4).



Hình 5.2.4. Cơ chế phản ứng transpeptidation của PBP

Các β-lactam phỏng theo cơ chế này, có thể coi là D-Ala-D-Ala "giả", phản ứng với serine tại trung tâm xúc tác của PBP bằng liên kết amide của vòng β-lactam. Nhóm carboxylate ở C2 của các thuốc β-lactam giống như đầu C của cơ chất -D-Ala-D-Ala, nên đóng vai trò quan trọng trong khả năng gắn kết giữa thuốc và trung tâm xúc tác của PBP. Sản phẩm tạo thành ngăn enzyme phản ứng với cơ chất, đồng thời quá trình thủy phân để trả lại enzyme tự do cũng khó xảy ra (Hình 5.2.5) [1,4-6].



Hình 5.2.5. Cơ chế tác dụng của β-lactam

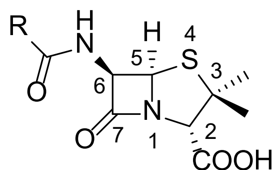
4. CƠ CHẾ ĐỀ KHÁNG THUỐC

Vi khuẩn đề kháng kháng sinh họ β-lactam theo các cơ chế chính sau [1,7]:

- Màng ngoài của tế bào vi khuẩn gram âm là hàng rào cản thuốc tự nhiên. Penicillin G, V, penicillin nhóm kháng tụ cầu,… không có tác dụng trên vi khuẩn gram âm do cấu tạo của thành tế bào có lớp màng ngoài không cho thuốc đi qua (Vi khuẩn gram âm đề kháng tự nhiên với penicillin G và penicillin V).
- Tạo enzyme thủy phân vòng β-lactam làm bất hoạt thuốc. Các enzyme này được gọi chung là β-lactamase. Các β-lactamase có thể bất hoạt các penicillin, cephalosporin thế hệ 1, 2, 3 và aztreonam (trừ cephamycins và các carbapenem) được gọi là ESBL (Extended-spectrum β-lactamase). Hiện nay, các kháng sinh β-lactam thường được sử dụng phối hợp với các thuốc ức chế β-lactamase (xem chi tiết trong phần 6).
- Thay đổi cấu trúc của PBP làm giảm khả năng gắn kết của thuốc β-lactam. Các chủng *Staphylococcus aureus* kháng methicillin (tụ cầu kháng methicillin) gọi tắt là MRSA (Methicillin-resistant *S. aureus*) sản xuất PBP2a không có ái lực với methicillin và các kháng sinh cùng nhóm [8].
- Giảm sản xuất hoặc đột biến các kênh porin ở màng ngoài của thành tế bào vi khuẩn gram âm. Các kênh này có vai trò như cổng vào cho các β-lactam đến được đích tác dụng.
- Tăng sản xuất các bơm ngược (efflux pump) tại màng ngoài, làm cho các kháng sinh bị đẩy ra khỏi tế bào vi khuẩn.

5. CÁC NHÓM KHÁNG SINH β-LACTAM

5.1. β-lactam nhóm penicillin

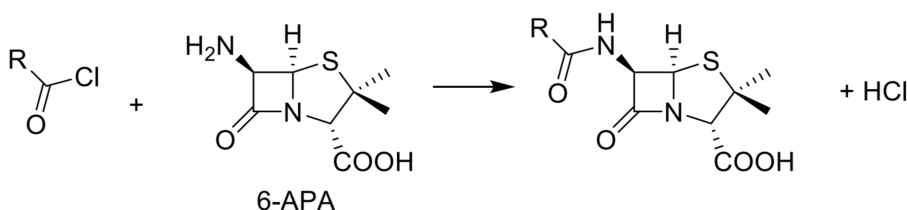


Hình 5.2.6. Cấu trúc chung của β-lactam nhóm penicillin

Các penicillin có cấu trúc chung là hệ thống hai vòng (bicyclic): vòng β-lactam kết hợp với vòng thiazolidine năm cạnh, nhóm carboxylic acid ở vị trí số 2, và mạch nhánh acylamino ở vị trí số 6 (Hình 5.2.6).

Có thể nói tất cả các penicillin tự nhiên và bán tổng hợp đều là dẫn xuất acyl hóa của 6-aminopenicillanic acid (6-APA): Do vậy 6-APA là nguyên liệu chính để điều chế các penicillin bán tổng hợp (Hình 5.2.7). Trong qui trình bán tổng hợp các penicillin, một

base hữu cơ (ví dụ như *N*,*N*-dimethylaniline) thường được thêm vào để làm thuận lợi cho phản ứng (trung hòa acid tạo thành).



Hình 5.2.7. Phản ứng tạo penicillin bán tổng hợp

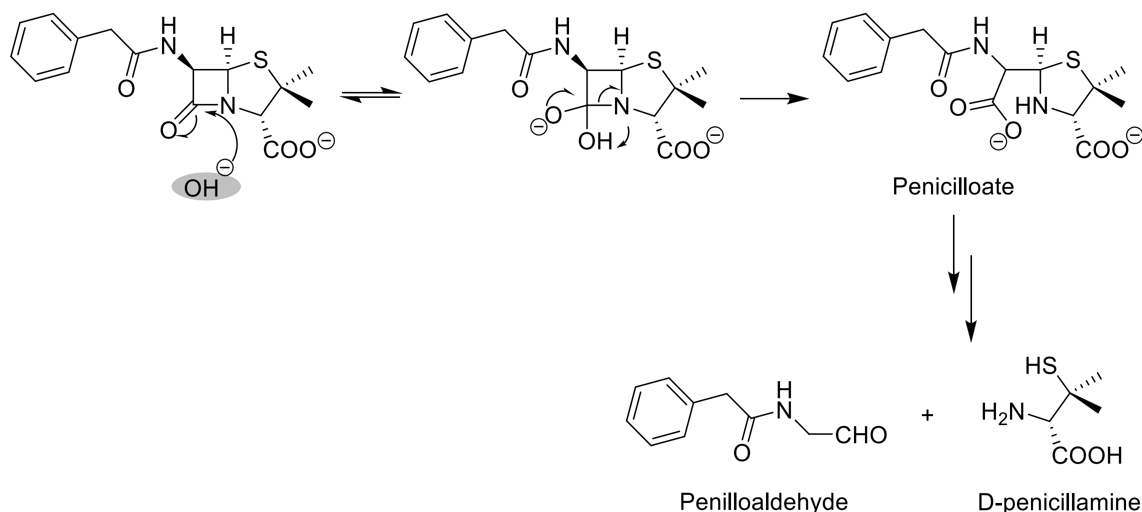
5.1.1. Các thuốc trong nhóm [4,5]

5.1.1.1. Penicillin G và penicillin V

Penicillin G hay còn gọi là benzyl penicillin (R = benzyl) do nấm men *Penicillium chrysogenum* sản xuất khi phenylacetic acid được cung cấp vào môi trường nuôi cấy.

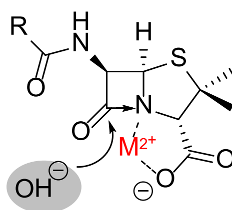
Penicillin G là kháng sinh diệt khuẩn có phổ kháng khuẩn hẹp, chủ yếu trên vi khuẩn gram dương vì không vượt qua được màng ngoài của thành tế bào vi khuẩn gram âm (xem chi tiết phổ kháng khuẩn trong Bảng 5.2.1).

Penicillin G kém bền: vòng β-lactam bị thủy phân trong môi trường kiềm hoặc acid (Hình 5.2.8 và 5.2.13). Do đó penicillin G không sử dụng bằng đường uống.



Hình 5.2.8. Phản ứng thủy phân penicillin G trong môi trường kiềm

Vòng β-lactam cũng bị tấn công bởi các tác nhân ái nhân (nucleophile) như alcohol, amine. Ion kim loại (Cu^{2+}, Zn^{2+}, Ni^{2+},…) xúc tác sự mở vòng lactam của các tác nhân ái nhân vì sự tạo phức làm tăng sự phân cực của liên kết N-C=O của vòng lactam (Hình 5.2.9):

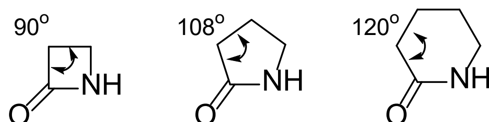


Hình 5.2.9. Sự tạo phức giữa penicillin và ion kim loại (M^{2+})

Có 3 nguyên nhân gây ra tính kém bền của vòng β-lactam:

- Vòng β-lactam có sức căng lớn

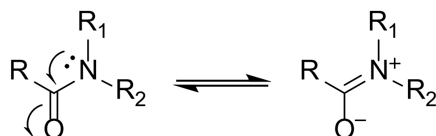
Góc liên kết (bond angle) lý tưởng được tạo thành bởi carbon lai hóa *sp*^{3} là 109.5^o. Trong vòng β-lactam, góc liên kết tạo thành chỉ có 90^o (Hình 5.2.10), có sức căng lớn nên dễ tham gia phản ứng mở vòng để giải tỏa sức căng.



Hình 5.2.10. So sánh góc liên kết tạo thành trong vòng lactam bốn, năm và sáu cạnh

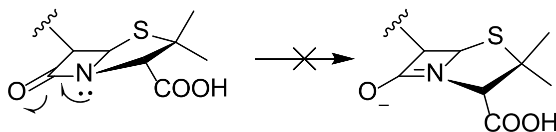
- Nhóm amide của vòng β-lactam dễ bị tấn công bởi các tác nhân ái nhân

Các amide thường tương đối bền với các nucleophile do đôi electron tự do của nitrogen tham gia cộng hưởng làm giảm tính ái điện tử (electrophile) của carbon nhóm C=O. Sự cộng hưởng này cũng làm nhóm amide có cấu dạng phẳng (Hình 5.2.11):



Hình 5.2.11. Sự cộng hưởng của nhóm amide

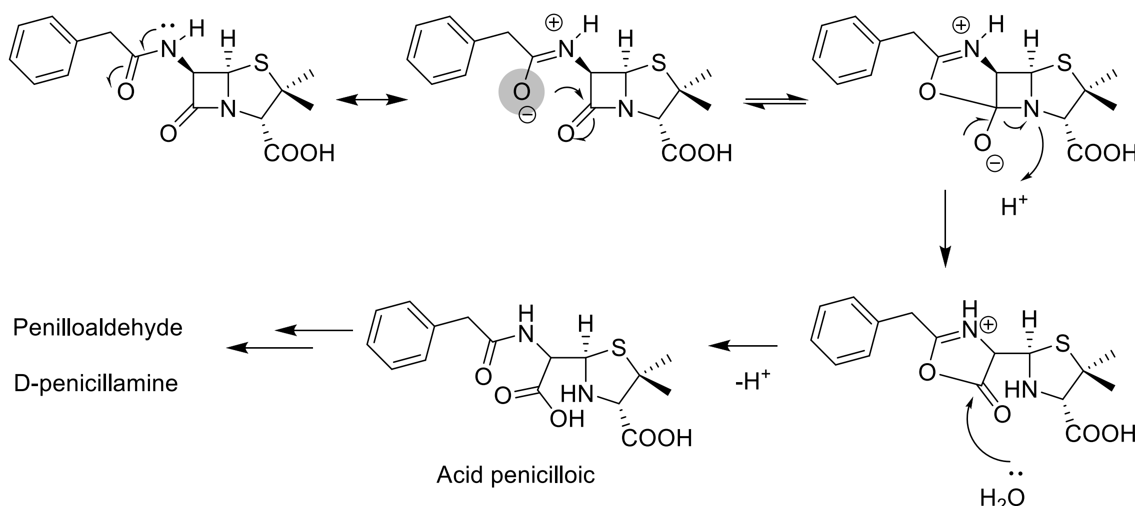
Đối với nhóm amide của vòng β-lactam, đôi electron tự do của nitrogen không thể tham gia cộng hưởng do cấu trúc bicyclic cộng với sức căng vòng cao. Nếu nitrogen tham gia cộng hưởng sẽ tạo ra cấu trúc 2 vòng phẳng, không khả thi về mặt năng lượng (Hình 5.2.12).



Hình 5.2.12. Nitrogen của vòng β-lactam không tham gia cộng hưởng

- Mạch nhánh tham gia tấn công vòng β-lactam

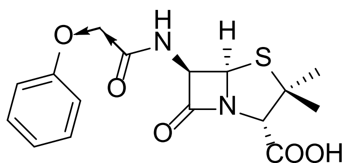
Oxygen của nhóm carbonyl trên mạch nhánh cũng là một tác nhân nucleophile, lại nằm ngay kề cận vòng β-lactam nên dễ dàng tấn công mở vòng (Hình 5.2.13):



Hình 5.2.13. Sự tấn công mở vòng β-lactam của mạch nhánh trong môi trường acid

Để hạn chế tính kém bền của vòng β-lactam, chỉ có nguyên nhân thứ 3 là có thể khắc phục (vòng β-lactam rất cần thiết cho hoạt tính kháng khuẩn). Bằng cách thay nhóm benzyl của penicillin G bằng một nhóm rút điện tử, ta có thể làm giảm điện tích âm/tính nucleophile của oxygen trên mạch nhánh.

Penicillin V (phenoxymethyl penicillin) (R = phenoxymethyl) được tổng hợp từ nấm men *Penicillium* khi môi trường được cung cấp phenoxyacetic acid. Penicillin V bền với acid dạ dày và có thể sử dụng đường uống do oxygen của nhóm phenoxymethyl có tính rút điện tử.



Hình 5.2.14. Penicillin V

Tóm lại, penicillin G và penicillin V:

- Là kháng sinh diệt khuẩn có phổ kháng khuẩn hẹp, chủ yếu trên vi khuẩn gram dương.

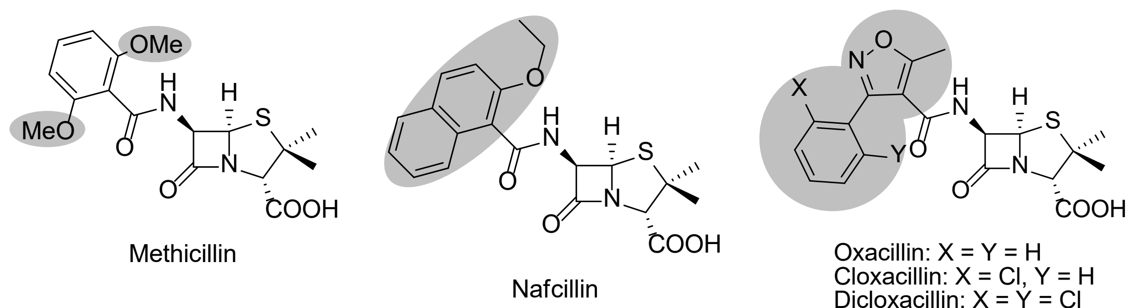
- Có vòng β-lactam dễ bị mở bởi nhiều tác nhân (acid, base, ion kim loại, các tác nhân ái nhân, penicillinase).

5.1.1.2. Các penicillin phổ hẹp, bền với β-lactamase (penicillinase)

Có 2 phương pháp để giải quyết tình trạng kháng thuốc bởi vi khuẩn sản xuất β-lactamase:

- Kết hợp một β-lactam với chất ức chế β-lactamase.

- Thay đổi cấu trúc thuốc làm cho β-lactamase khó tiếp cận vòng β-lactam, bằng cách gắn các nhóm thế cồng kềnh trên mạch nhánh (Hình 5.2.15). Tuy nhiên, các nhóm này cũng cản trở thuốc tác dụng trên PBP nên làm giảm hoạt tính kháng khuẩn.



Hình 5.2.15. Cấu trúc các penicillin phổ hẹp, bền với β-lactamase

Methicillin bền với penicillinase, tuy nhiên do không có nhóm rút điện tử trên mạch nhánh nên methicillin kém bền với acid (chỉ dùng đường tiêm). Hoạt tính kháng sinh kém hơn penicillin G.

Nafcillin có mạch nhánh 2-ethoxynaphthyl, có tính chất tương tự methicillin.

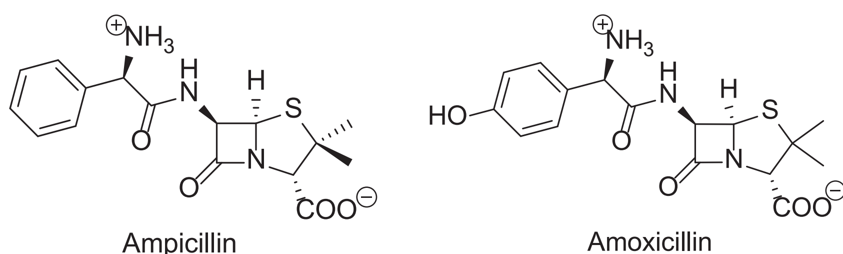
Oxacillin, cloxacillin và dicloxacillin có mạch nhánh cồng kềnh, lại có vòng isoxazolyl rút điện tử nên kém nhạy cảm với penicillinase và bền với acid. Tuy nhiên hoạt tính kháng sinh cũng giảm sút so với penicillin G.

Về mặt phổ kháng khuẩn, ưu điểm duy nhất của nhóm các thuốc nêu trên so với penicillin G là chúng có tác dụng tốt trên tụ cầu vàng *(S. aureus)* đề kháng penicillin G bằng cách tiết penicillinase, do vậy nên còn được gọi là *nhóm penicillin kháng tụ cầu*. Ngày nay, hầu hết các chủng tụ cầu phân lập từ bệnh viện đều là MRSA - đề kháng với nhóm thuốc này.

5.1.1.3. Các penicillin phổ rộng nhưng nhạy cảm với penicillinase

Các aminopenicillin (ampicillin và amoxicillin)

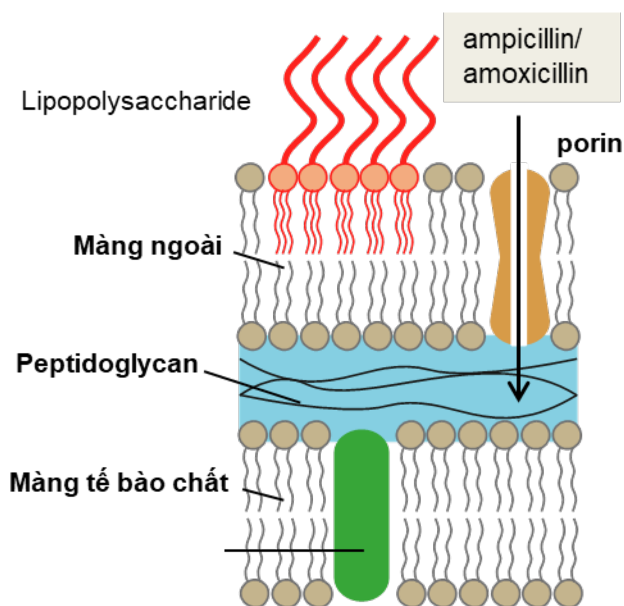
Ampicillin và amoxicillin có thêm một nhóm amino -NH_2 gắn trên C_α của mạch nhánh so với penicillin G (Hình 5.2.16). Sự khác biệt nhỏ về cấu trúc này tạo nên hai ưu điểm: tăng độ bền đối với acid và mở rộng phổ kháng khuẩn sang vi khuẩn gram âm (nên được gọi là kháng sinh phổ rộng).



Hình 5.2.16. Các aminopenicillin

Trong cơ thể, nhóm amino được proton hóa và tích điện dương, có tính rút điện tử mạnh nên giảm tính nucleophile của oxygen nhóm carbonyl và giảm khả năng tấn công vòng β-lactam của mạch nhánh. Bên cạnh đó, sự tồn tại của một nhóm tích điện dương ngăn các H^+ (acid) tiếp cận do lực đẩy tĩnh điện. Cả ampicillin và amoxicillin đều có thể sử dụng đường uống nhưng amoxicillin có sinh khả dụng cao hơn ampicillin.

Ưu điểm thứ hai khi thêm nhóm amino là sự cải thiện tác dụng trên vi khuẩn gram âm. Các penicillin đã được đề cập ở phần trước hầu như chỉ có tác dụng trên vi khuẩn gram dương, vì vi khuẩn gram âm có thêm cấu trúc màng ngoài (màng phospholipid) ngăn cản các penicillin đến với đích tác động. Ampicillin và amoxicillin có thể vượt qua lớp màng ngoài này nhờ đi qua kênh porin nằm ở màng ngoài (Hình 5.2.17). Hai thuốc này vừa có nhóm tích điện dương (NH_3^+) và nhóm tích điện âm (COO^-), nên được gọi là hợp chất zwitterion (ion lưỡng tính). Cấu trúc zwitterion có khả năng tương tác mạnh với các amino acid tích điện của kênh porin và được vận chuyển vào trong tế bào vi khuẩn [7].

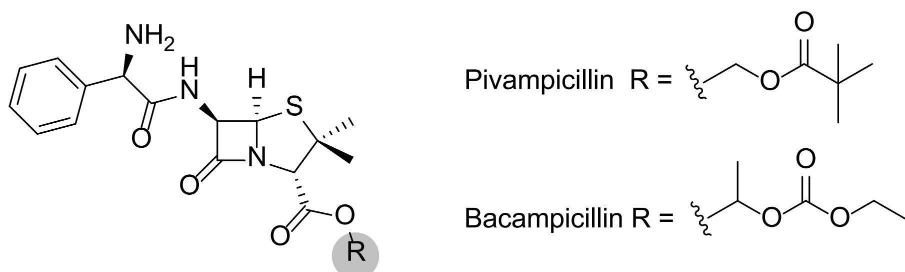


Hình 5.2.17. Cơ chế vượt qua màng ngoài vi khuẩn gram âm của ampicillin và amoxicillin

Trên vi khuẩn gram dương, phổ kháng khuẩn của ampicillin và amoxicillin tương tự như penicillin G. Trên vi khuẩn gram âm, hiệu quả trên nhiều loại vi khuẩn như *Shigella, Samonella, Escherichia coli, Haemophilus influenza, Neisseria gonorrhoeae,...*

Từ cấu trúc mạch nhánh khá tương tự penicillin G nên ampicillin và amoxicillin cũng có nhược điểm là nhạy cảm với penicillinase.

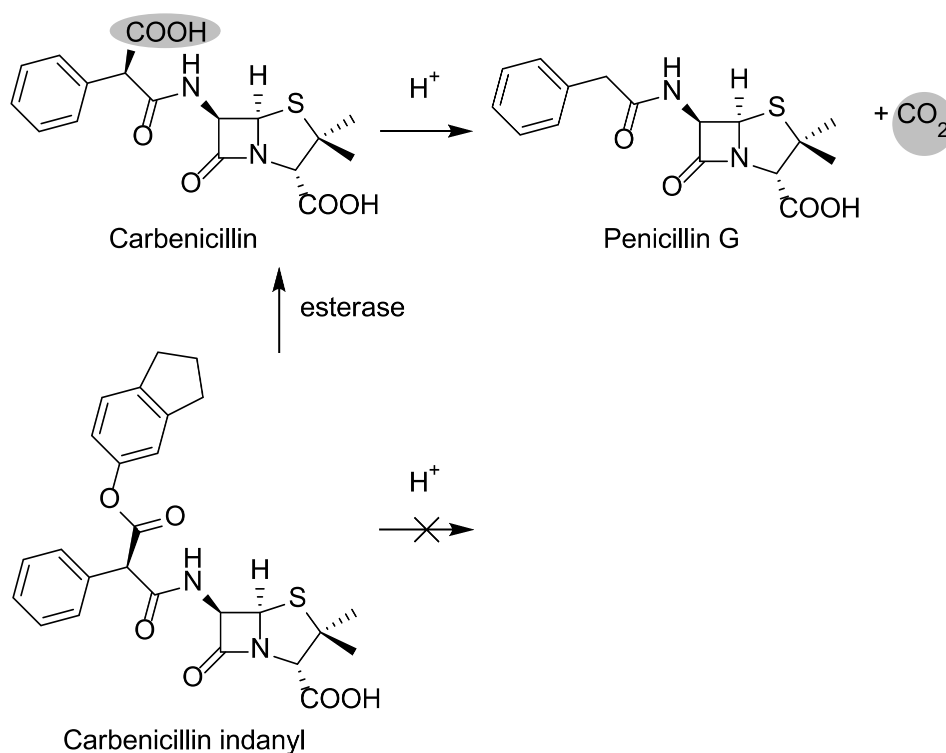
Để cải thiện sinh khả dụng đường uống của ampicillin, nhóm carboxylate được chuyển thành ester tạo thành tiền dược (prodrug): bacampicillin, pivampicillin (Hình 5.2.18). Sau khi được hấp thụ, các esterase thủy phân nhóm ester và giải phóng ampicillin.



Hình 5.2.18. Các tiền dược của ampicillin

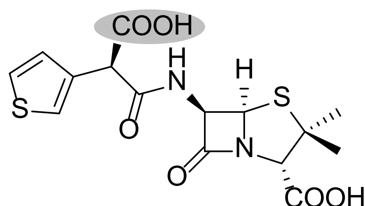
Các carboxypenicillin (carbenicillin và ticarcillin)

Carbenicillin là penicillin đầu tiên có tác dụng trên trực khuẩn mủ xanh *(Pseudomonas aeruginosa).* Tuy nhiên, carbenicillin có nhiều nhược điểm như phải dùng liều cao, độc tính cao, giảm tính kháng khuẩn trên vi khuẩn gram dương. Carbenicillin phải dùng đường tiêm vì kém bền với acid. Mặc dù có thêm nhóm carboxylate rút điện tử, nhưng nhóm này lại dễ dàng bị decarboxyl hóa trong môi trường acid tạo thành penicillin G. Do đó carbenicillin được sử dụng đường uống dưới dạng tiền dược carbenicillin indanyl bền với acid.



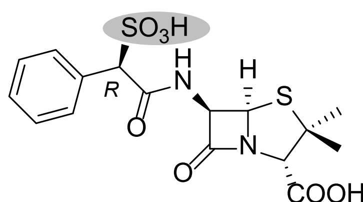
Hình 5.2.19. Tính không bền của carbenicillin trong môi trường acid

Ticarcillin là một dẫn xuất của carbenicillin (vòng phenyl tại mạch nhánh được thay bằng dị vòng thơm thiophenyl). Ticarcillin có phổ kháng khuẩn tương tự carbenicillin và dùng đường tiêm, tuy nhiên ít độc hơn và có thể dùng liều thấp hơn carbenicillin.



Hình 5.2.20. Ticarcillin

Sulbenicillin



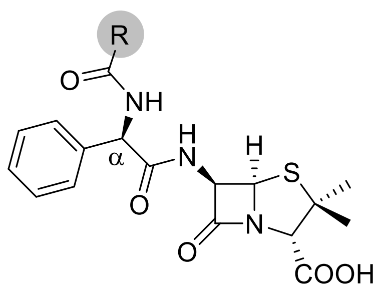
Hình 5.2.21. (*R*)-Sulbenicillin

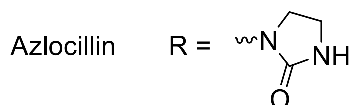
Sulbenicillin có nhóm sulfo (-SO_3H) thay cho nhóm carboxy của carbenicillin, được sử dụng dưới dạng hỗn hợp hai đồng phân *R* và S. Tuy nhiên, đồng phân *R* có hoạt tính kháng khuẩn cao gấp 40 lần đồng phân *S* [9].

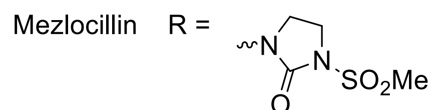
Sulbenicillin có phổ rộng, đặc biệt có khả năng kháng các các chủng *Pseudomonas* cao hơn một chút so với carbenicillin [10]. Nhóm sulfo tích điện âm (trong cơ thể) là đặc biệt quan trọng cho hoạt tính kháng *Pseudomonas,* vì khi thay nhóm này bằng các nhóm trung hòa điện như -SO_2NH_2, -SO_2CH_3 làm mất hoạt tính trên *Pseudomonas* [11].

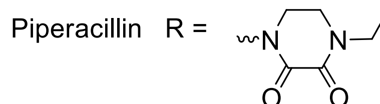
Các ureidopenicillin (azlocillin, mezlocillin và piperacillin)

Các ureidopenicillin có gắn nhóm urea ở vị trí C_α trên mạch nhánh. Piperacillin khi kết hợp với thuốc ức chế β-lactamase (piperacillin-tazobactam) có phổ kháng khuẩn rộng nhất trong nhóm penicillin *(P. aeruginosa,* MSSA*, H. influenzae, B. fragilis, E. coli và Klebsiella).* Nhóm ureido không bền trong môi trường acid nên các thuốc nhóm này vẫn phải dùng đường tiêm.



Azlocillin R =


Mezlocillin R =


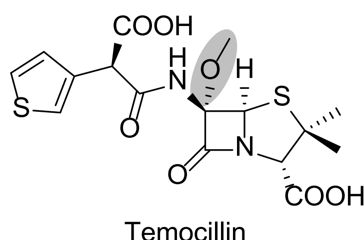
Piperacillin R =


Hình 5.2.22. Các ureidopenicillin

5.1.1.4. Các penicillin khác

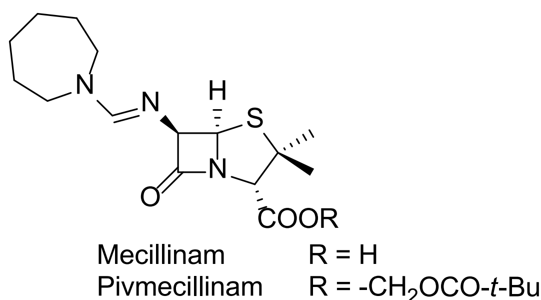
Temocillin là dẫn xuất 6-α-methoxy của ticarcillin. Nhóm methoxy này làm cho temocillin có khả năng kháng β-lactamase, ngay cả các ESBL. Tuy nhiên, cấu trúc tinh thể cho thấy nhóm methoxy cũng làm giảm độ bền của phức hợp PBP-temocillin làm tăng khả năng thủy giải phức hợp và phóng thích PBP hoạt động. Vì vậy, temocillin mất hoạt tính trên vi khuẩn gram dương, vi khuẩn kỵ khí và *P. aeruginosa*.

Temocillin có phổ kháng khuẩn hẹp trên *Enterobacteriaceae, H. influenzae, Moraxella catarrhalis, Neisseria* spp. *và Burkholderia cepacia*. Trước đây, phổ kháng khuẩn hẹp của temocillin làm cho thuốc ít được sử dụng. Trong những năm gần đây, trước tình hình đề kháng kháng sinh ngày càng tăng, temocillin được chú ý đến và sử dụng trong điều trị chọn lọc vi khuẩn gây bệnh nằm trong phổ kháng khuẩn của temocillin (targeted therapy), hạn chế phát triển sự đề kháng của các vi khuẩn [12,13].



Hình 5.2.23. Temocillin

Pivmecillinam là tiền dược của mecillinam, được sử dụng đường uống, có cấu trúc 6-amidinopenicillanic acid (các kháng sinh penicillin khác đều có cấu trúc *N*-acyl-6-aminopenicillanic acid).



Hình 5.2.24. Mecillinam và pivmecillinam

Mecillinam không có hoạt tính trên vi khuẩn gram dương và *P. aeruginosa* nhưng lại có hoạt tính tốt trên nhiều vi khuẩn gram âm như *E. coli, Klebsiella pneumoniae, Enterobacter* sp, *Citrobacter* sp, *Salmonella enteritidis, Salmonella typhi,* và *Neisseria gonorrhoeae.*

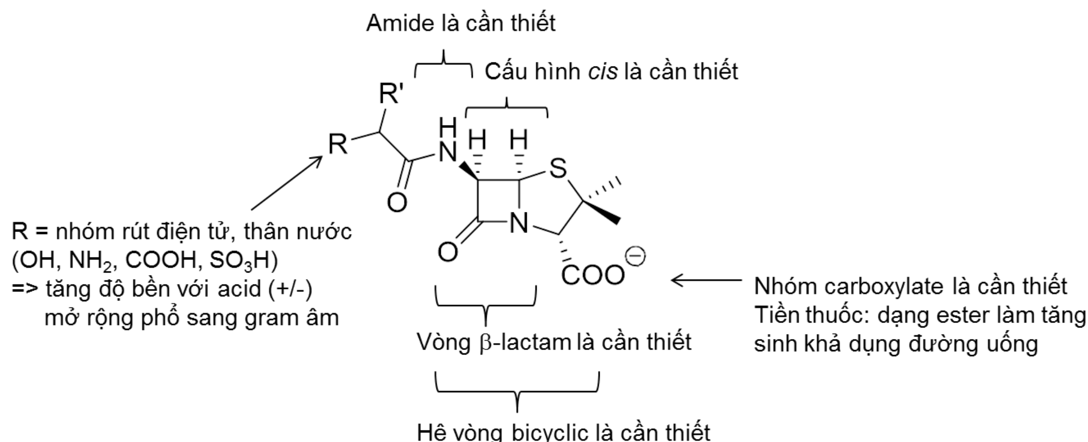
Với hoạt tính tốt trên nhiều vi khuẩn gây nhiễm trùng đường tiết niệu, đặc biệt là *E. coli,* pivmecillinam là một trong các kháng sinh nằm trong phác đồ điều trị nhiễm trùng đường tiết niệu. Một ưu điểm khác của mecillinam là thuốc ít gây đề kháng ở các *Enterobacteriaceae* so với các kháng sinh cùng nhóm như ampicillin và amoxicillin. Do có phổ hẹp, thuốc cũng ít gây rối loạn hệ vi khuẩn đường ruột và âm đạo [14,15].

Bảng 1. Tóm tắt các kháng sinh nhóm penicillin (I = injection; O = oral)

Tên thuốc	Đường sử dụng	Phổ kháng khuẩn [16]	Độ bền với acid	Độ bền với β-lactamase
Penicillin G	I	*Streptococcus pneumonia, Treponema pallidum,* β-hemolytic streptococci, viridans streptococci, gram dương kỵ khí, *Neisseria meningitidis*	-	-
Benzathine/procain penicillin G	I		-	
Penicillin V	O		+	
Penicillin bền với β-lactamase				
Methicillin	I	streptococci, MSSA	-	+
Oxacillin	I		+	
Cloxacillin	O		+	
Dicloxacillin	O		+	
Nafcillin	I		-	
Aminopenicillin				
Ampicillin	O, I	β-hemolytic streptococci, *E. faecalis, S. pneumoniae,* viridans streptococci, *H. influenzae.* Hoạt tính yếu trên *Proteus, E. coli* Kết hợp với thuốc ức chế lactamase: Tăng hoạt tính trên *H. influenzae, Bacteroides fragilis, Proteus, E. coli, Klebsiella,* MSSA	+	-
Amoxicillin	O			
Carboxypenicillin				
Carbenicillin	I	Tương tự ampicillin và tăng hoạt tính trên *Pseudomonas, Enterobacter* và *Proteus.*	-	-
Carbenicillin indanyl	O		+	
Ticarcillin	I		-	

Tên thuốc	Đường sử dụng	Phổ kháng khuẩn [16]	Độ bền với acid	Độ bền với β-lactamase
Ureidopenicillin				
Azlocillin	I	Tương tự ampicillin/sulbactam và tăng hoạt tính trên *E. coli, Klebsiella, Pseudomonas, Citrobacter, Enterobacter*	-	-
Mezlocillin				
Piperacillin				
Các penicillin khác				
Sulbenicillin	I	Tương tự carbenicillin, tăng hoạt tính trên *Pseudomonas*.	-	-
Temocillin	I	Vk gram âm: *Enterobacteriaceae*, *H. influenzae, Moraxella catarrhalis, Neisseria* spp. và *Burkholderia cepacia*	-	+
Pivmecillinam	O	Vk gram âm: *E. coli, K. pneumoniae, Enterobacter* sp, *Citrobacter* sp, *Salmonella* và *Neisseria gonorrhoeae*	+	-

5.1.2. Quan hệ cấu trúc - tác dụng [4,5]



Hình 5.2.25. Liên quan cấu trúc - tác dụng của nhóm penicillin

- Vòng β-lactam là rất quan trọng cho hoạt tính kháng khuẩn. Do đó các tác nhân gây mở vòng β-lactam làm mất hoạt tính kháng sinh.

- Hệ vòng bicyclic là cần thiết, do vòng thiazolidine làm tăng sức căng của vòng β-lactam nên làm tăng hoạt tính.

- Nhóm carboxylate là cần thiết vì tham gia liên kết với PBP. Nhưng do tạo ion nên làm giảm sinh khả dụng đường uống. Nhóm này được chuyển thành ester ở các tiền dược dùng đường uống, khi vào cơ thể sẽ được thủy phân giải phóng nhóm carboxylate tự do.

- Cấu hình *cis* của C5 và C6 (5*R*,6*R*) là cần thiết cho hoạt tính.

- Mạch nhánh: amide mạch nhánh trên C6 là cần thiết cho hoạt tính kháng khuẩn (ngoại trừ mecillinam); thêm các nhóm rút điện tử/thân nước làm tăng độ bền của vòng β-lactam, đồng thời mở rộng phổ sang vi khuẩn gram âm; mạch nhánh có nhóm cồng kềnh làm tăng độ bền của thuốc đối với các penicillinase.

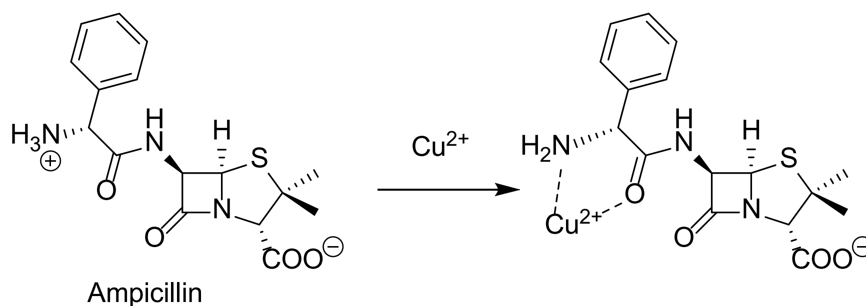
5.1.3. Kiểm nghiệm [17,18]

- *Định tính:*

+ Sắc ký lớp mỏng, phổ hấp thu hồng ngoại, pH, hàm lượng nước, năng suất quay cực.

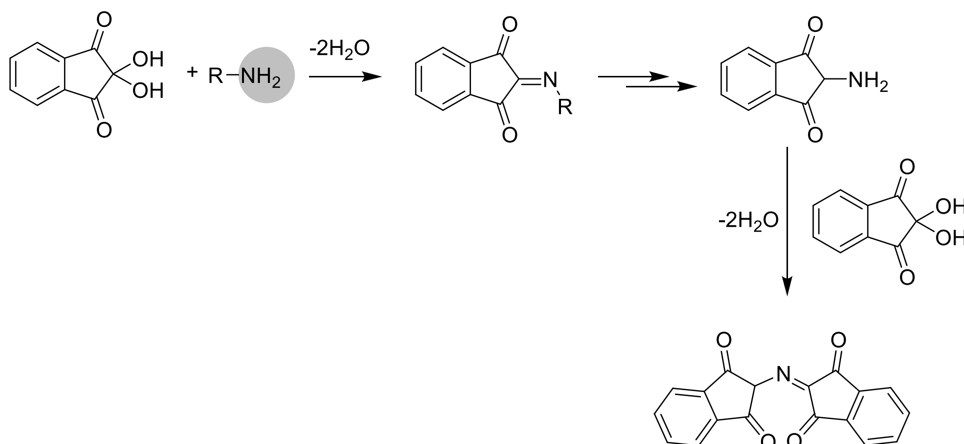
+ Phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin (phụ lục 8.3 - Dược Điển Việt Nam 5): Nhiều kháng sinh nhóm penicillin và cephalosporin phản ứng với formaldehyde trong sulfuric acid (thuốc thử Marquis) ở 100 °C, tạo sản phẩm có màu từ vàng sẫm đến nâu đỏ.

+ Ampicilin, amoxicillin tạo phức với Cu^{2+} trong thuốc thử Fehling cho màu tím đỏ (Hình 5.2.26).



Hình 5.2.26. Cơ chế phản ứng của ampicillin với thuốc thử Fehling

+ Ampicillin và amoxicillin có nhóm $-NH_2$ nên cho phản ứng màu với thuốc thử Ninhydrin (Hình 5.2.27).



Hình 5.2.27. Cơ chế phản ứng màu với thuốc thử Ninhydrin

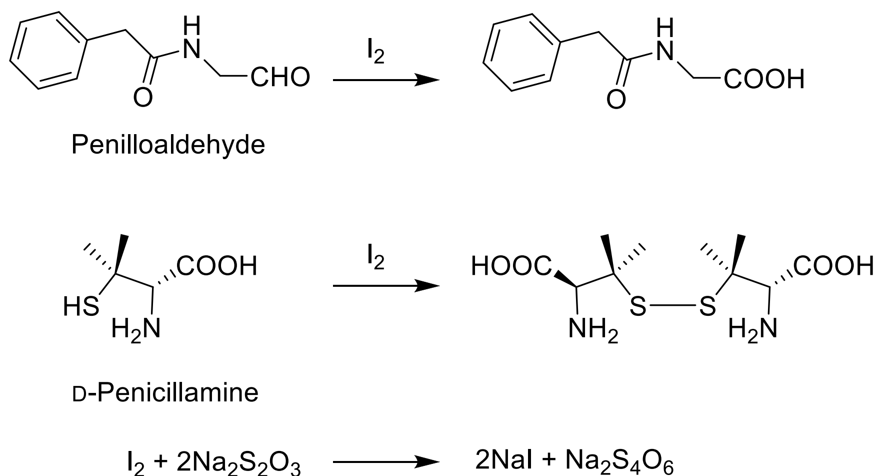
- Kiểm tinh khiết:

Tạp *N,N*-dimethylaniline được qui định kiểm trong chuyên luận các penicillin bán tổng hợp như amoxicillin natri, ampicillin natri, ticarcillin natri.

- Định lượng

Hiện nay, hầu hết các kháng sinh nhóm penicillin được định lượng bằng phương pháp sắc ký lỏng. Bên cạnh đó, trong phụ lục 10.7 của Dược điển Việt Nam 5 có đề cập đến phương pháp định lượng các kháng sinh họ penicilin bằng phương pháp đo iodine trong môi trường kiềm.

Trong môi trường kiềm, các penicillin bị mở vòng và phân hủy thành penilloaldehyde và D-penicillamine. Các sản phẩm phân hủy này có thể phản ứng với iodine (đóng vai trò là chất oxy hóa). Sau phản ứng, lượng iodine còn dư trong dung dịch được chuẩn độ bằng natri thiosulfate đến khi chỉ thị màu hồ tinh bột mất màu xanh (Hình 5.2.28).

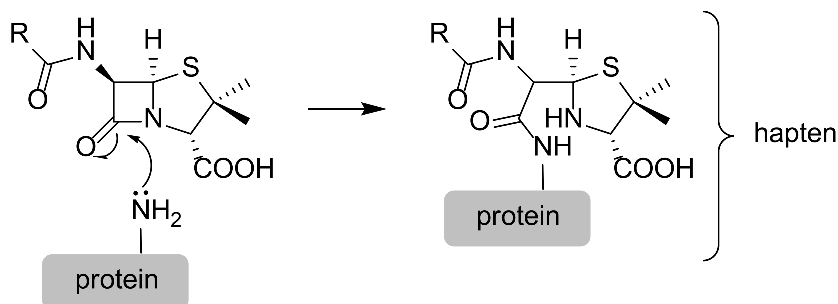


Hình 5.2.28. Định lượng penicillin bằng phương pháp đo iodine

5.1.4. Tác dụng phụ

Kháng sinh nhóm penicillin tương đối an toàn, ít gây tác dụng phụ và độc tính.

Tác dụng phụ phổ biến nhất của các penicillin và các thuốc nhóm β-lactam là phản ứng dị ứng (sốt, phát ban, khó thở, sốc phản vệ,…) từ lần sử dụng thuốc thứ hai. Phản ứng dị ứng do sự tạo thành hapten - sản phẩm phản ứng cộng hợp giữa protein và vòng β-lactam. Hapten được coi là tác nhân lạ đối với cơ thể và có thể gây ra phản ứng miễn dịch.



Hình 5.2.29. Cơ chế phản ứng dị ứng penicillin

Penicillin có thể ảnh hưởng đến hệ vi khuẩn ruột. Ở người khỏe mạnh, hệ vi khuẩn ruột có thể được hồi phục sau khi ngưng sử dụng kháng sinh. Tuy nhiên, một số trường hợp có thể bị bội nhiễm *Clostridium difficile* gây viêm đại tràng màng giả [16].

5.1.5. Bào chế, bảo quản và sử dụng [4]

Các penicillin do có nhóm carboxylic acid nên được ứng dụng trong bào chế dưới dạng muối natri hoặc kali làm tăng độ tan trong nước.

Do tính kém bền của vòng β-lactam nên các chế phẩm dùng đường tiêm thường được bào chế và bảo quản dưới dạng bột đông khô, được hòa tan trong nước vô khuẩn ngay trước khi tiêm.

Penicillin G có thể tạo muối kém tan với các base hữu cơ (procain hoặc benzathine) để tạo dạng thuốc tiêm bắp phóng thích chậm và tác dụng kéo dài.

Các penicillin tương kỵ với kháng sinh nhóm aminoglycoside (có các nhóm amine và tạo môi trường base) nên không được trộn lẫn.

Trong một số trường hợp, probenecid được sử dụng làm tăng nồng độ penicillin trong máu vì probenecid là thuốc ức chế OAT-3 - một protein vận chuyển giúp tái hấp thu penicillin ở ống lượn gần của thận.

5.1.6. Ứng dụng trong trị liệu [16]

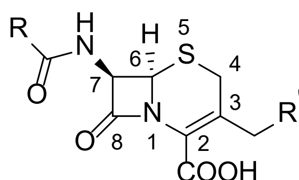
Penicillin G được sử dụng điều trị các loại nhiễm khuẩn do các chủng nhạy cảm như: nhiễm trùng máu, viêm màng não, viêm màng trong tim, viêm phổi, bệnh giang mai, bệnh than, bạch hầu,…

Ampicillin and amoxicillin được sử dụng điều trị các bệnh nhiễm trùng đường hô hấp trên gây ra bởi *S. pyogenes, S. pneumoniae* và *H. influenza* còn nhạy cảm với thuốc; nhiễm trùng đường tiết niệu gây ra bởi *Enterobacteriaceae,* chủ yếu là *E. coli;* viêm màng não cấp do *S. pneumoniae* hoặc *Neisseria meningitidis*.

Piperacillin và các thuốc cùng nhóm dành cho điều trị các bệnh nhiễm trùng nặng gây ra bởi vi khuẩn gram âm đề kháng với ampicillin (nhiễm trùng máu, viêm phổi, nhiễm trùng vết bỏng, nhiễm trùng đường tiết niệu,...).

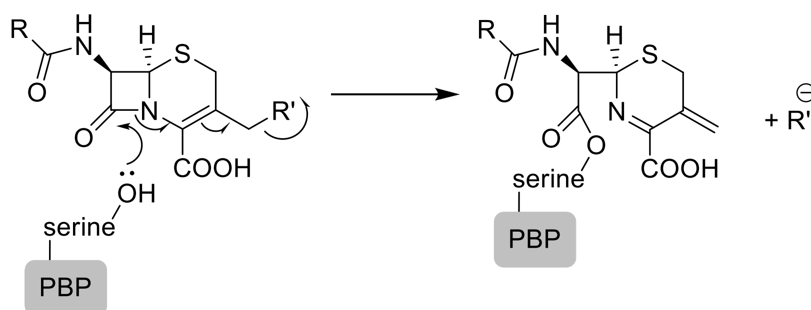
Do tình hình đề kháng ngày càng phổ biến, các penicillin cần được phối hợp với kháng sinh có tác dụng hiệp đồng và với các thuốc ức chế β-lactamase.

5.2. β-lactam nhóm cephalosporin



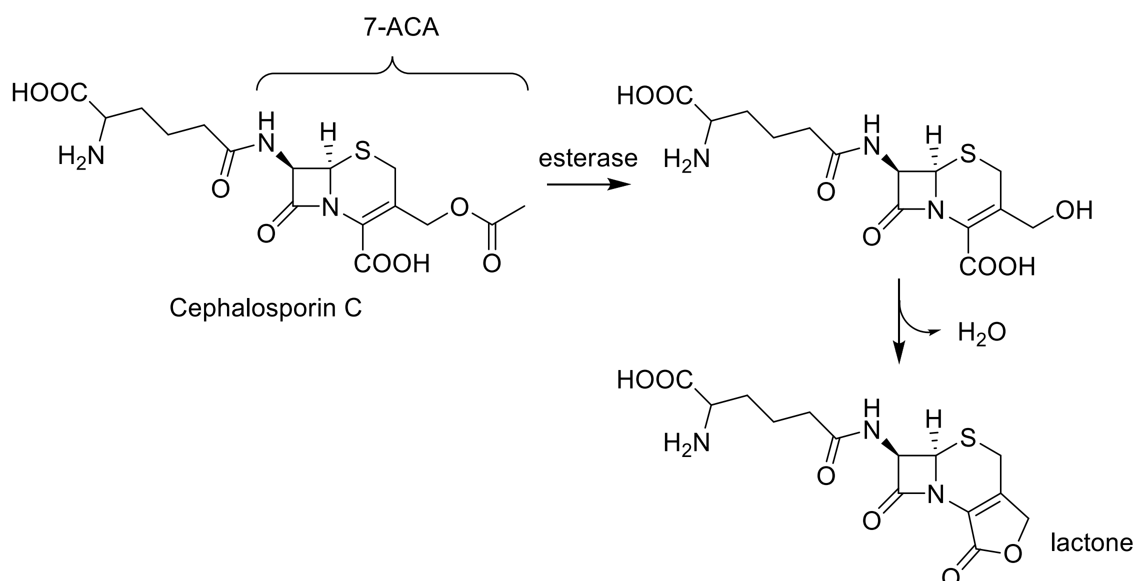
Hình 5.2.30. Cấu trúc chung của β-lactam nhóm cephalosporin

Cephalosporin có hệ thống vòng bicyclic β-lactam và dihydrothiazine sáu cạnh. Vòng sáu cạnh làm giảm độ căng của vòng so với vòng thiazolidine năm cạnh của penicillin, nên đúng ra hoạt tính của nhóm cephalosporin phải kém hơn nhóm penicillin. Tuy nhiên, sự giảm hoạt tính này được bù trừ bởi nối đôi giữa C2 và C3 và nhóm R’ có vai trò là một nhóm đi ra (leaving group) ở vị trí C3 (Hình 5.2.31).



Hình 5.2.31. Cơ chế tác dụng của các cephalosporin

Năm 1948, các cephalosporin đầu tiên (cephalosporin P, N và C) được phân lập từ môi trường nuôi cấy nấm *Cephalosporium acremonium* sản xuất. Các cephalosporin tự nhiên có hoạt tính kháng khuẩn kém. Bên cạnh đó, cephalosporin C có nhóm acetoxy ở C3 bị thủy phân bởi các esterase trong cơ thể, tạo thành nhóm hydroxyl ở gần với nhóm carboxylate ở C2 nên dễ dàng đóng vòng tạo lactone. Do nhóm carboxylate rất cần thiết để thuốc có thể gắn với PBP, việc tạo lactone gây bất hoạt thuốc (Hình 5.2.32) [4].



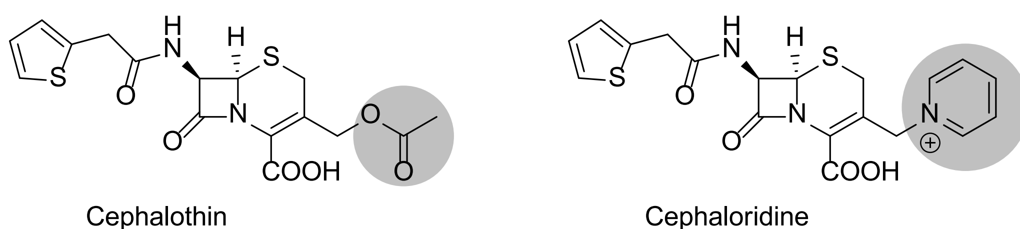
Hình 5.2.32. Cơ chế chuyển hóa và bất hoạt cephalosporin C

Mặc dù không được sử dụng trong lâm sàng nhưng các cephalosporin tự nhiên cung cấp khung cấu trúc quan trọng, 7-aminocephalosporanic acid (7-ACA), cho việc nghiên cứu và phát triển hàng loạt kháng sinh cephalosporin bán tổng hợp. Các cephalosporin thế hệ mới ra đời với mục tiêu kéo dài tác dụng (tăng độ bền với esterase), mở rộng phổ kháng khuẩn và chống lại sự đề kháng kháng sinh.

5.2.1. Các thuốc trong nhóm [4,5]

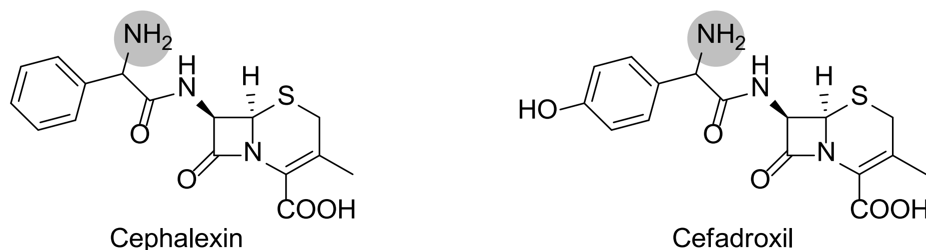
5.2.1.1. Cephalosporin thế hệ 1

Cephalosporin bán tổng hợp đầu tiên là cephalothin. Cephalosporin này vẫn còn nhóm acetoxy ở C3 nên bị bất hoạt bởi esterase. Thay nhóm acetoxy thành nhóm pyridinium tạo thành cephaloridine. Nhóm pyridinium là nhóm đi ra tốt và không bị thủy phân bởi esterase.



Hình 5.2.33. Cephalothin và cephaloridine

Cephalexin và cefadroxil là hai kháng sinh sử dụng đường uống, có nhóm amino tại C_α tương tự như ampicillin và amoxicillin; C3 chỉ có nhóm methyl giúp tăng hấp thu đường uống nhưng vì không phải là một nhóm đi ra tốt nên làm giảm hoạt tính của vòng β-lactam (giảm hoạt tính ức chế PBP).



Hình 5.2.34. Cephalexin và cefadroxil

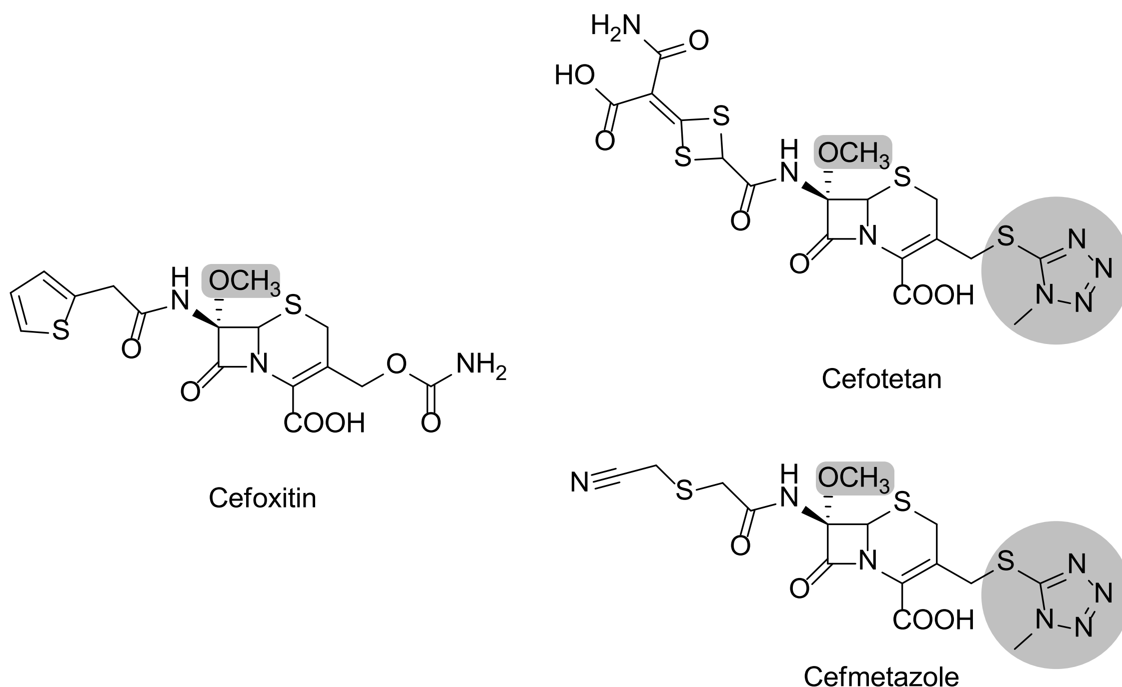
5.2.1.2. Cephalosporin thế hệ 2

Các cephamycin

Cephamycin C được phân lập từ vi khuẩn *Streptomyces clavuligerus* có hydro ở vị trí C7 được thay bằng nhóm methoxy. Các cephalosporin bán tổng hợp có gắn nhóm này

được gọi chung là cephamycin: cefoxitin, cefotetan, cefmetazole. Nhờ có nhóm methoxy gây hiệu ứng không gian, các cephamycin bền với β-lactamase.

Cefoxitin có nhóm carbamate ở C3 nên không bị bất hoạt bởi esterase. Cefotetan và cefmetazole có nhóm *N*-methyl-5-thiotetrazole (MTT) ở C3, làm tăng hoạt tính kháng khuẩn và kháng esterase (Hình 5.2.35). Tuy nhiên, khi thuốc bị chuyển hóa trong cơ thể, nhóm MTT được giải phóng ức chế quá trình tổng hợp các yếu tố đông máu nên gây ảnh hưởng đến quá trình đông máu. Ngoài ra nhóm MTT còn gây hội chứng antabuse do ức chế aldehyde dehydrogenase (enzyme chuyển hóa ethanol). Nghiên cứu liên quan cấu trúc - tác dụng cho thấy nhóm methyl gắn trên vòng tetrazole và nguyên tử lưu huỳnh gắn ở vị trí 5 có vai trò quan trọng cho hoạt tính ức chế enzyme [19].

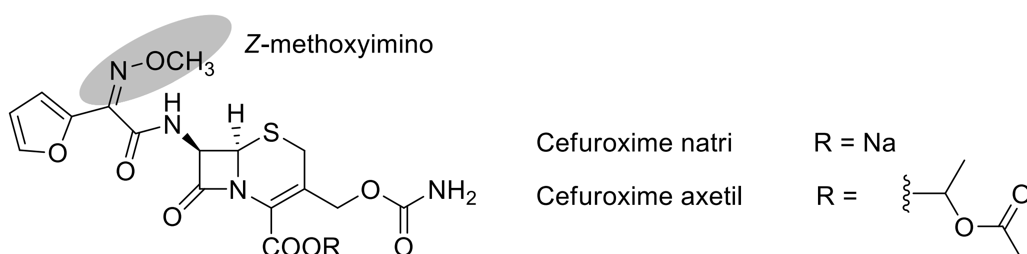


Hình 5.2.35. Các cephamycin

Z-Oximinocephalosporin

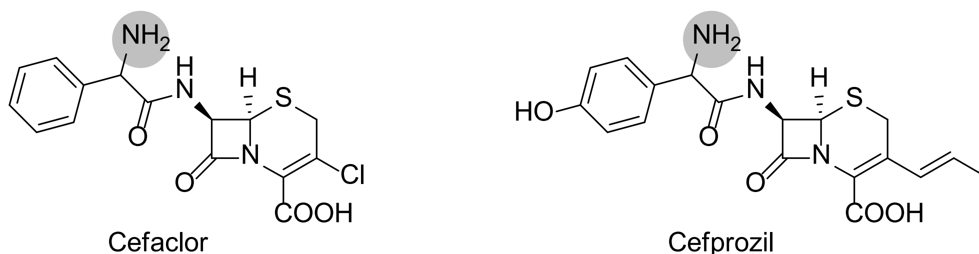
Cefuroxime là cephalosporin đầu tiên có cấu trúc methoxyimino ở mạch nhánh trên C7. Cấu trúc này gây hiệu ứng không gian cản trở β-lactamase tiếp cận vòng β-lactam. Đặc biệt, cấu hình Z có khả năng kháng β-lactamase cao hơn cấu hình *E*. Với ưu điểm trên, các cephalosporin thế hệ sau đều có cấu trúc *Z*-methoxyimino hoặc tương tự (gọi chung là *Z*-oximimino).

Cefuroxime natri được sử dụng đường tiêm. Dạng tiền dược có nhóm carboxylate dưới dạng ester-cefuroxime axetil, được sử dụng đường uống.



Hình 5.2.36. Cefuroxime

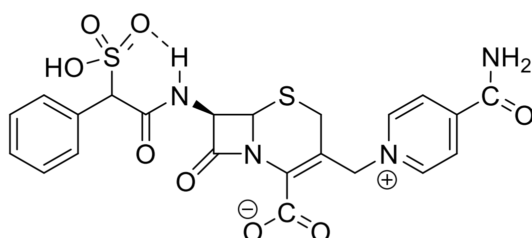
Cefaclor và cefprozil là hai thuốc sử dụng đường uống, có cấu trúc mạch nhánh trên C7 giống như cephalexin và cefadroxil. Nhằm tăng hoạt tính trên vi khuẩn gram âm, nhóm methyl trên C3 của cephalexin và cefadroxil được thay thế bằng nguyên tử Cl (cefaclor) và 1-propenyl (cefprozil).



Hình 5.2.37. Cefaclor và cefprozil

5.2.1.3. Cephalosporin thế hệ 3

α-Sulfocephalosporin



Hình 5.2.38. Cefsulodin

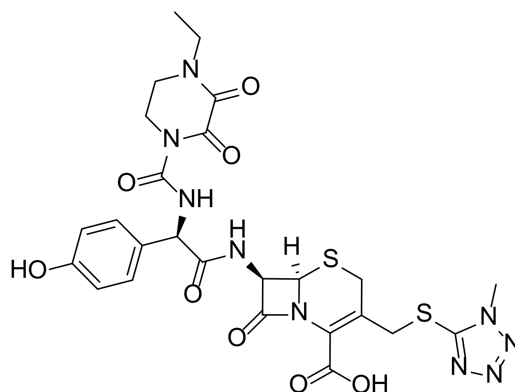
Cefsulodin có hai đặc điểm cấu trúc quan trọng liên quan đến hoạt tính:

- Nhóm sulfo gắn trên $C_α$ của mạch nhánh acylamino, tương tự như sulbenicillin, có vai trò làm tăng độ bền của thuốc với cephalosporinase (cefsulodin bền hơn cefoperazone nhưng kém hơn ceftazidime). Tính bền này là nhờ liên kết hydro nội phân tử giữa nhóm sulfo và -NH (Hình 5.2.38). Tuy nhiên việc gắn một nhóm có tính acid trên mạch nhánh có thể là nguyên nhân làm mất hoạt tính trên vi khuẩn gram dương.

- Nhóm pyridinomethyl gắn trên C3 giúp làm tăng tính thấm của thuốc qua thành tế bào vi khuẩn *P. aeruginosa.*

Cefsulodin có điểm đặc biệt là chỉ có tác dụng trên *P. aeruginosa.* Thuốc hầu như không có hoạt tính hoặc hoạt tính rất yếu trên các vi khuẩn khác [20].

Ureidocephalosporin



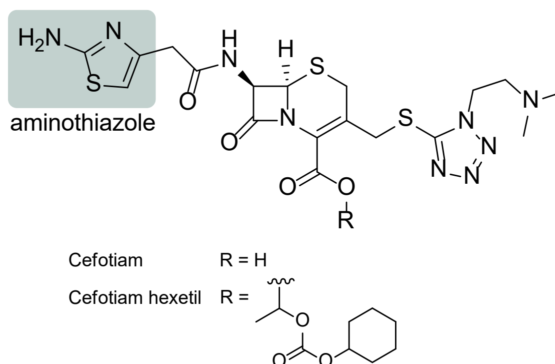
Hình 5.2.39. Cefoperazone

Cefoperazone có nhóm thế trên C_α tương tự piperacillin (Hình 5.2.39).

Cefoperazone, có phổ kháng khuẩn rộng, hoạt tính rất tốt trên *Enterobacteriaceae (E. coli, Klebsiella, Enterobacter, Proteus), Acinetobacter,* cũng như *P. aeruginosa.* Tuy nhiên, cefoperazone kém bền với β-lactamase hơn cephamycin hay Z-oximinocephalosporin*,* do đó thường được phối hợp với sulbactam. Phối hợp cefoperazone-sulbactam có hiệu quả tốt trên các vi khuẩn gram âm đa kháng thuốc [21,22].

Do có nhóm MTT ở C3, cefoperazone cũng gây ảnh hưởng đến quá trình đông máu và hội chứng antabuse.

Aminothiazolylcephalosporin



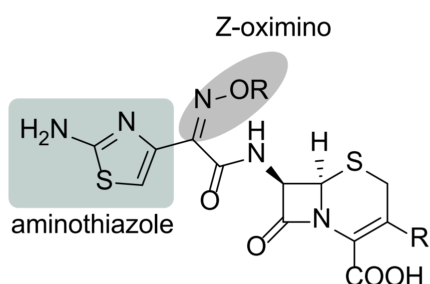
Hình 5.2.40. Cefotiam

Vòng aminothiazole (hoặc aminothiadiazole) làm tăng ái lực của cefotiam lên PBP của vi khuẩn gram âm, vì vậy cấu trúc này tiếp tục xuất hiện trong hầu hết các cephalosprin thế hệ thứ 3, thứ 4, thứ 5. Tuy nhiên, cấu trúc aminothiazole không làm tăng độ bền của thuốc đối với β-lactamase [23].

Thay nhóm methyl bằng nhóm *N,N*-dimethylaminoethyl gắn trên vòng 5-thiotetrazole làm giảm tác dụng phụ antabuse và hạ prothrombin huyết gây ra do vòng MTT [19]. Cefotiam hexetil là dạng tiền dược dùng đường uống.

Alkoxyiminocephalosporin

Các cephalosporin nhóm này đều có mạch nhánh trên C7 mang cấu trúc *Z*-oximino gắn với vòng aminothiazole. Cấu trúc này làm các cephalosporin thế hệ 3 bền với β-lactamase và mở rộng phổ sang vi khuẩn gram âm, nhưng hoạt tính trên vi khuẩn gram dương kém đi. Nhóm thế trên C3 ảnh hưởng đến sinh khả dụng đường uống và chuyển hóa thuốc.



Hình 5.2.41. Cấu trúc chung của các alkoxyiminocephalosporin

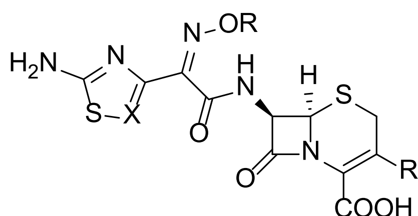
	R	**R'**
Cefotaxime	-CH_3	
Ceftriaxone	-CH_3	
Cefixime	-CH_2COOH	
Cefdinir	H	
Ceftazidime		

Mạch nhánh R' của cefotaxime có nhóm acetoxy nên kém bền và dễ bị thủy phân gây mất hoạt tính. Ceftriaxone có R' là vòng thiotriazinedione bền hơn nhóm ester của cefotaxime, đồng thời có tính acid nên ceftriaxone được bào chế ở dạng muối disodium.

Các cephalosporine như cefixime và cefdinir có R' là nhóm vinyl làm tăng sinh khả dụng đường uống.

Ceftazidime có nhóm R là dimethylacetic acid vừa làm tăng độ bền của thuốc đối với β-lactamase, vừa làm tăng ái lực của hai kháng sinh này trên PBP của trực khuẩn mủ xanh. Cấu trúc pyridinium trên R' có tác dụng vừa làm tăng độ tan trong nước, vừa làm tăng hoạt tính của vòng β-lactam.

5.2.1.4. Cephalosporin thế hệ 4



Hình 5.2.42. Cấu trúc chung của các cephalosporin thế hệ 4

	X	R	R'
Cefepime	C	$-CH_3$	
Cefpirome	C	$-CH_3$	
Cefquinome	C	$-CH_3$	
Cefozopran	N	$-CH_3$	
Ceftolozane	N		

Cấu trúc của các cephalosporin thế hệ 4 luôn có phần aminothiazole hoặc aminothiadiazole tại mạch nhánh trên C7 (giống thế hệ 3), quan trọng để mở rộng phổ kháng khuẩn trên gram âm; luôn có alkoxyimino trên C_α của mạch nhánh giúp bền với β-lactamase; nhóm thế R' tại C3 luôn có N bậc 4.

Ceftolozane có nhóm R là dimethylacetic acid giống ceftazidime nhưng có nhóm thế trên C3 (R') chứa vòng pyrazolium có tác dụng trên trực khuẩn mủ xanh tốt hơn vòng pyridinium của ceftazidime.

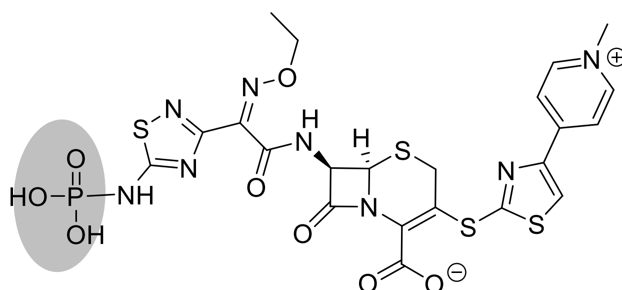
Nghiên cứu liên quan cấu trúc - tác dụng của R' cũng cho thấy nhóm R' lớn làm cho thuốc bền hơn với β-lactamase nên ceftolozane có tác dụng trên các trực khuẩn mủ xanh tiết β-lactamase nhóm C, trong khi ceftazidime thì không. R' có các nhóm amino nhằm mục đích tăng tính base của thuốc và làm tăng tính thấm của thuốc qua màng ngoài của thành tế bào trực khuẩn mủ xanh [24].

Cefepime được thiết kế nhằm cải thiện hoạt tính trên vi khuẩn gram dương của ceftazidime. Thay cấu trúc pyridinium bằng *N*-methylpyrrolidium trên R' của ceftazidime và nhóm R = methyl làm tăng hoạt tính trên *S. aureus* đồng thời cải thiện hoạt tính trên một số vi khuẩn gram âm như *E. coli, K. pneumoniae,* còn hoạt tính trên *P. aeruginosa* tương tự như ceftazidime [25].

5.2.1.5. Cephalosporin thế hệ 5, tác dụng trên MRSA

Ceftaroline fosamil được FDA cấp phép lưu hành năm 2010 với chỉ định điều trị các bệnh nhiễm trùng da cấp tính gây ra bởi các vi khuẩn nhạy cảm với thuốc *(S. aureus*, kể cả MRSA, *Strept. pyogenes, Strept. agalactiae, E. coli, K. pneumoniae, K. oxytoca);* điều trị viêm phổi mắc phải cộng đồng gây ra bởi *Strept. pneumoniae, S. aureus, H. influenzae, K. pneumoniae, K. oxytoca,* và *E. coli*.

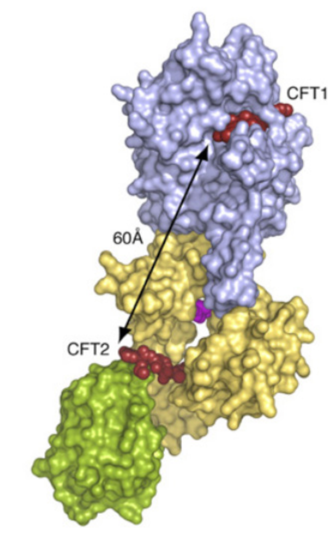
Ceftaroline fosamil là tiền dược, có nhóm phosphate làm tăng độ tan của thuốc (Hình 5.2.43). Nhóm này được thủy giải nhanh chóng bởi các phosphatase trong máu tạo thành ceftaroline.



Hình 5.2.43. Ceftaroline fosamil

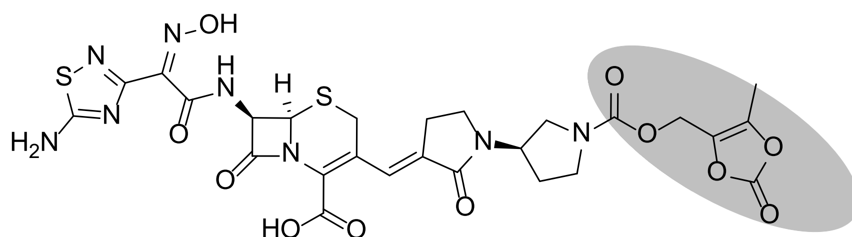
Hoạt tính trên MRSA của ceftaroline là nhờ khả năng ức chế PBP2a (như đã đề cập ở phần 4). PBP2a có túi xúc tác được bảo vệ khỏi sự tiếp cận của các β-lactam nhờ một mạch protein nằm chắn phía trước; khi cơ chất (mạch peptidoglycan đang hình thành) gắn vào PBP2a ở một vị trí allosteric, làm PBP2a thay đổi cấu dạng và túi xúc tác được mở ra, cho phép quá trình tổng hợp peptidoglycan được diễn ra.

Cấu trúc tinh thể nhiễu xạ tia X của PBP2a với ceftaroline cho thấy một phân tử ceftaroline gắn kết lên protein ở vị trí allosteric và làm mở túi xúc tác, làm cho một phân tử ceftaroline thứ hai có thể gắn vào túi xúc tác và ức chế PBP2a (Hình 5.2.44) [26].



Hình 5.2.44. Cấu trúc PBP2a gắn kết với một phân tử ceftaroline (CFT2) ở vị trí allosteric và một phân tử ceftaroline (CFT1) ở vị trí xúc tác [26]

Ceftobiprole medocaril có cấu trúc và hoạt tính tương tự ceftaroline và cũng ở dạng tiền dược.



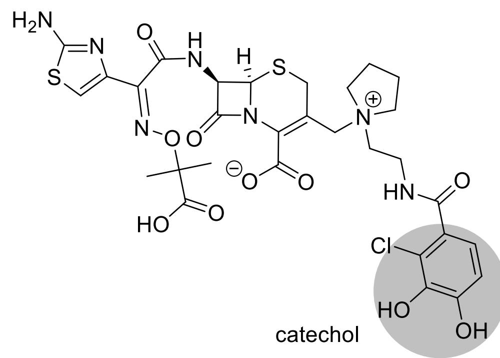
Hình 5.2.45. Ceftobiprole medocaril

Nhờ cơ chế mới này, ceftaroline và ceftobiprole có thể tiêu diệt được nhiều chủng MRSA kháng thuốc. Tuy nhiên, sau một thời gian sử dụng, các chủng MRSA mới xuất hiện để kháng với ceftaroline và ceftobiprole nhờ đột biến ở vị trí allosteric [26].

5.2.1.6. Cephalosporin mới, bất hoạt vi khuẩn đề kháng bằng cách tăng tính thấm qua màng

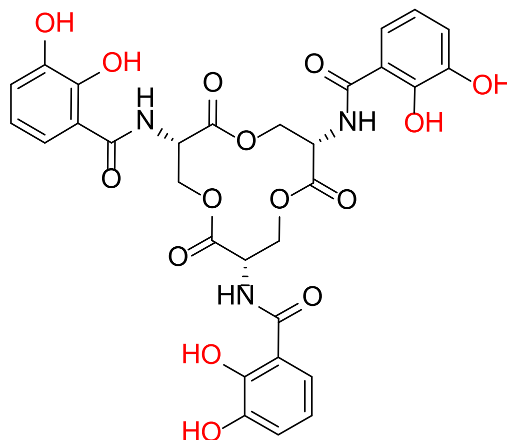
Năm 2019, **cefiderocol** là kháng sinh mới được FDA cấp phép lưu hành. Thuốc kháng với nhiều loại β-lactamase (kể cả ESBL và carbapenemase) và có tác dụng tốt trên vi khuẩn gram âm *Enterobacteriaceae* kháng carbapenem, đặc biệt là *P. aeruginosa*.

Cefiderocol có cấu trúc tương đồng với cephalosporin từ thế hệ 3 trở đi (*Z*-oximino gắn với vòng aminothiazole). Điểm khác biệt của cefiderocol chính là phần **catechol** trên mạch nhánh C3 (Hình 5.2.46) giúp đưa kháng sinh vào trong tế bào vi khuẩn (đặc biệt là vi khuẩn gram âm) nhờ vận dụng cơ chế thu nạp ion sắt của vi khuẩn.



Hình 5.2.46. Cefiderocol

Vi khuẩn cần đến ion sắt cho quá trình phát triển. Do ion sắt không thể thấm qua màng tế bào phospholipid, vi khuẩn có một cơ chế để "bắt" lấy các ion sắt này từ bên ngoài tế bào, nhờ tiết ra các **siderophore**. Các siderophore, ví dụ như enterobactin (Hình 5.2.47) được tiết ra bởi *E.coli,* có các catechol có khả năng tạo phức với ion sắt. Sau đó, phức hợp Fe-siderophore được các protein vận chuyển ở màng ngoài và màng trong vận chuyển chủ động vào trong tế bào [28-30].



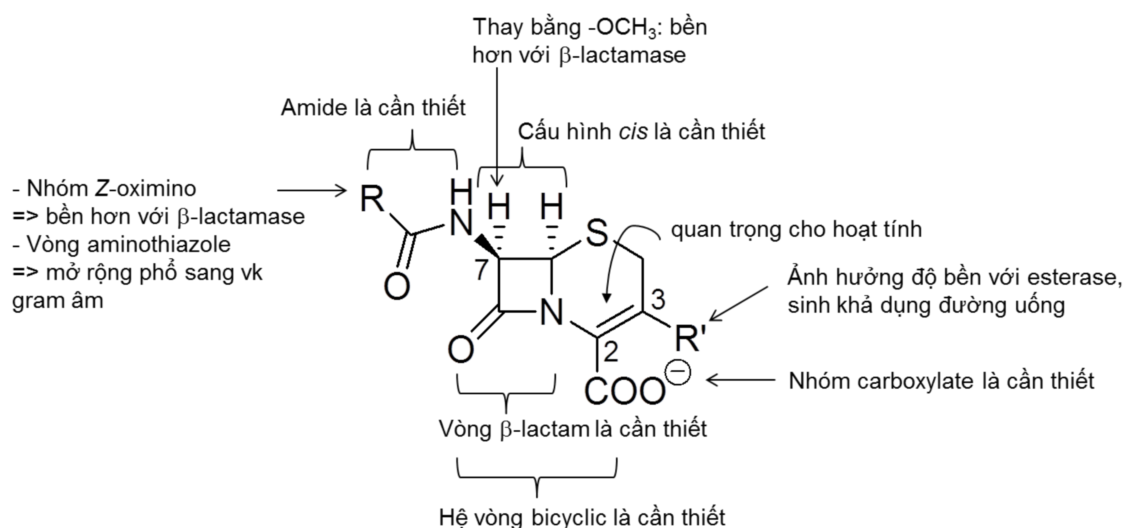
Hình 5.2.47. Enterobactin với 3 nhóm catechol tạo phức với Fe^{3+}

Bảng 5.2.2. Tóm tắt về đường sử dụng, phổ kháng khuẩn các kháng sinh nhóm cephalosporin

Tên thuốc	Đường sử dụng	Phổ kháng khuẩn [16]
	Thế hệ 1	
Cephalothin Cephaloridine Cefazolin Cephalexin Cefadroxil …	I I I O O	Streptococci, *S. aureus, Proteus, E. coli, Klebsiella*
	Thế hệ 2	
Cefoxitin Cefotetan Cefmetazole Cefuroxime Cefuroxime axetil Cefaclor Cefprozil …	I I I I O O O	*Proteus, E. coli, Klebsiella, H. influenzae, Moraxella catarrhalis, Bacteroides* Hoạt tính trên vk gram dương kém hơn thế hệ 1
	Thế hệ 3	
Cefsulodin Cefoperazone Cefotiam Cefotaxime Ceftriaxone Cefdinir Cefditoren pivoxil Ceftibuten Cefpodoxime proxetil Ceftazidime …	I I I I I O O O O I	Cefsulodin chỉ có hoạt tính trên *P. aeruginosa* Cefoperazone và cefotiam phổ rộng nhưng kém bền với β-lactamase *Proteus, E. coli, Klebsiella, H. influenzae, M. catarrhalis, Citrobacter, Enterobacter, Serratia, N. gonorrhoeae* Hoạt tính trên *S. aureus, Strept. pneumoniae, and Strept. pyogenes* tương tự thế hệ 1; trên *Bacteroides* kém hơn cefoxitin và cefotetan Ceftazidime có hoạt tính trên *Pseudomonas* và có hoạt tính kém trên vk gram dương.

Tên thuốc	Đường sử dụng	Phổ kháng khuẩn [16]
	Cephalosporin thế hệ 4	
Ceftolozane	I	Tương tự ceftazidime + tăng hoạt tính trên *Pseudomonas* và *Enterobactericeae* sản xuất ESBL
Cefepime Cefquinome Cefozopran Cefpirome	I	Tương tự thế hệ 3 + bền hơn với β-lactamase (*Pseudomonas* và *Enterobacter*); trên vk gram dương tốt hơn ceftazidime và tương tự cefotaxime
	Cephalosporin thế hệ 5	
Ceftaroline fosamil Ceftobiprole medocaril	I I	Tương tự thế hệ 3 + hoạt tính trên MRSA
	Cephalosporin mới	
Cefiderocol	I	So với ceftazidime-avibactam và meropenem, cefiderocol có hoạt tính tốt hơn trên trực khuẩn gram âm hiếu khí, *Acinetobacter baumannii* (kể cả chủng đa kháng thuốc), *K. pneumoniae* kháng carbapenem, các chủng *P. aeruginosa* đa kháng thuốc

5.2.2. Quan hệ cấu trúc - tác dụng [4,5]



Hình 5.2.48. Liên quan cấu trúc - tác dụng của nhóm cephalosporin

- Vòng β-lactam là rất quan trọng cho hoạt tính kháng khuẩn (tương tự nhóm penam).

- Nhóm carboxylate là cần thiết (tương tự nhóm penam).

- Hệ hai vòng là cần thiết; nối đôi giữa C2 và C3 của vòng dihydrothiazine quan trọng cho hoạt tính.

- Cấu hình *cis* ở C6, C7 (6*R*,7*R*) là cần thiết.

- Nhóm *N*-methylthiotetrazole làm tăng hoạt tính kháng khuẩn nhưng ức chế tổng hợp các yếu tố đông máu (làm giảm prothrombin máu) và gây hội chứng antabuse.

- Amide mạch nhánh trên C7 là cần thiết (tương tự nhóm penam).

- Thay H của C7 bằng một nhóm methoxy làm tăng hoạt tính kháng khuẩn.

- Cấu trúc *Z*-oximimino trên mạch nhánh của C7 làm tăng độ bền của thuốc đối với β-lactamase.

- Vòng aminothiazole trên mạch nhánh của C7 làm tăng hoạt tính trên vi khuẩn gram âm.

- Các nhóm thế trên C3 có ảnh hưởng đến hoạt tính của vòng β-lactam, độ bền của thuốc và sinh khả dụng đường uống.

5.2.3. Kiểm nghiệm [17]

Tương tự nhóm penicillin.

5.2.4. Tác dụng phụ [16]

Tương tự penicillin, kháng sinh nhóm cephalosporin có thể gây phản ứng dị ứng (nhưng mức độ nhẹ hơn).

Cephalosprorin có thể gây rối loạn hệ vi khuẩn ruột và gây tiêu chảy, đặc biệt đối với các thuốc đào thải qua mật như cefoperazone.

Các thuốc có nhóm *N*-methyl-5-thiotetrazole (MTT) như cefotetan và cefmetazole có thể gây ảnh hưởng đến quá trình đông máu.

5.2.5. Bào chế, bảo quản và sử dụng

Tương tự nhóm penicillin.

5.2.6. Ứng dụng trong trị liệu [16]

Các cephalosporin thế hệ một được dùng điều trị các nhiễm trùng da, mô mềm và dự phòng trước khi phẫu thuật do có phổ kháng khuẩn tốt trên *S. pyogenes* và MSSA.

Các thuốc thế hệ hai hầu hết được thay thế bởi các thuốc thế hệ 3.

Các cephalosporin thế hệ ba được lựa chọn điều trị các bệnh nhiễm trùng nặng gây ra bởi *E. coli, Klebsiella, Proteus, Providencia, Serratia và Haemophilus* spp. Ceftriaxone là thuốc được ưu tiên sử dụng điều trị các bệnh do lậu cầu gây ra và bệnh Lyme. Cefotaxime và ceftriaxone dùng trong điều trị theo kinh nghiệm bệnh viêm màng não; cefotaxime và ceftriaxone được dùng trong điều trị viêm phổi mắc phải cộng đồng.

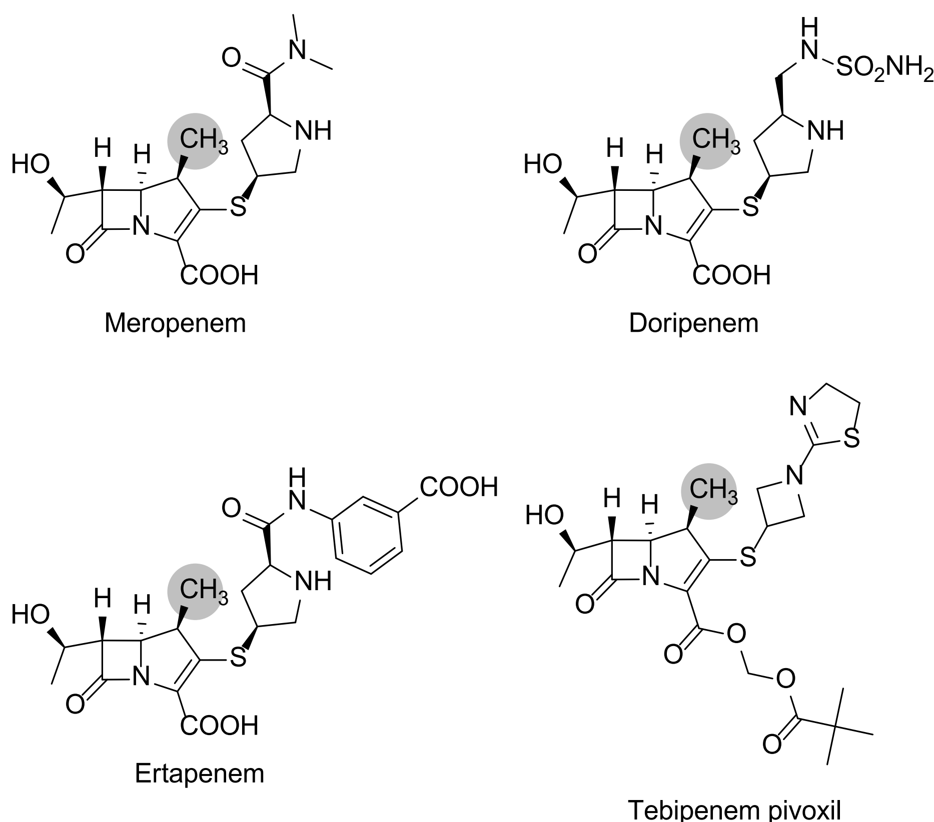
Nhóm cephalosporin kháng trực khuẩn mủ xanh được chỉ định điều trị theo kinh nghiệm các nhiễm trùng bệnh viện có khả năng cao do trực khuẩn mủ xanh hoặc các trực khuẩn gram âm gây ra.

5.3. β-lactam nhóm carbapenem [4]

Thienamycin là kháng sinh đầu tiên của nhóm carbapenem, được phân lập từ nấm men *Streptomyces cattleya*. Cấu trúc carbapenem tương tự với vòng penam, nhưng lưu huỳnh của vòng thiazolidine được thay bằng -CH_2- và có thêm một nối đôi. Thienamycin có phổ kháng khuẩn rộng, nhưng do tính kém bền, thienamycin không được sử dụng trong lâm sàng. Do thienamycin có nhóm amino tự do là một tác nhân nucleophile nên tấn công mở vòng β-lactam của một phân tử thienamycin kế cận. Tính kém bền được khắc phục nhờ chuyển nhóm amino thành nhóm *N*-formimidoyl ở dẫn xuất tổng hợp - imipenem.

Hình 5.2.49. Thienamycin và imipenem

Tuy nhiên, imipenem bị thủy phân và bất hoạt bởi dehydropeptidase của thận tạo thành chất chuyển hóa có độc tính với thận. Do đó, thuốc phải được kết hợp với cilastatin (thuốc ức chế dehydropeptidase). Các carbapenem đời sau (meropenem, doripenem, ertapenem) bền với dehydropeptidase nên không cần phải sử dụng chung với cilastatin. Tính bền này là do có thêm nhóm methyl ở vị trí C4.



Hình 5.2.50. Các 4-methylcarbapenem

Imipenem có nguy cơ gây co giật cao nhất trong nhóm (1.5% bệnh nhân), đặc biệt ở liều cao. Tác dụng phụ này có liên quan đến cấu trúc của mạch nhánh trên C3 và do khả năng ức chế thụ thể $GABA_A$ [31]. Các thuốc nhóm carbapenem có thể gây dị ứng chéo với các β-lactam khác.

Do tính thân nước cao, sinh khả dụng đường uống thấp, các carbapenem nêu trên chỉ sử dụng đường tiêm. Tebipenem pivoxil, tiền dược của tebipenem, là carbapenem đầu tiên sử dụng đường uống (sinh khả dụng đường uống 35-70%). Thuốc chỉ mới được cấp phép sử dụng tại Nhật Bản từ năm 2009 với chỉ định điều trị nhiễm trùng tai mũi họng và đường hô hấp ở trẻ em dưới dạng thuốc cốm (granules). Dạng bào chế mới, tebipenem pivoxil HBr (nhằm tăng độ ổn định của thuốc), đã được FDA cho phép tiến hành thử nghiệm lâm sàng giai đoạn III cho điều trị nhiễm trùng đường tiết niệu có biến chứng ở người lớn (complicated urinary tract infections) [32].

Bên cạnh ưu điểm là kháng sinh phổ rộng, các carbapenem bền với hầu hết β-lactamase. Các nghiên cứu cho thấy các đặc điểm sau có vai trò quan trọng cho tính bền: nguyên tử carbon ở vị trí 1; nhóm (*R*)-hydroxyethyl gắn trên C6; cấu hình "*trans*" của C5-C6 [33].

Vì tính bền với hầu hết β-lactamase, các kháng sinh nhóm này chỉ được sử dụng như là biện pháp cuối cùng để điều trị bệnh nhiễm trùng nặng, do vi khuẩn gram âm và kháng nhiều kháng sinh gây ra. Tuy nhiên, xuất hiện ngày càng nhiều chủng vi khuẩn có thể sản xuất β-lactamase bất hoạt được cả các carbapenem (carbapenemase) như carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) và carbapenem-resistant *P. aeruginosa* (CRPA).

Tóm lại, tất cả các carbapenem đều có:

- Nhóm 4-methyl: giúp carbapenem bền với dehydropeptidase;

- Nguyên tử carbon ở vị trí 4, cấu hình (*S*) ở C6 và 6-((*R*)-1-hydroxyethyl) và cấu hình "*trans"* của C5-C6: giúp thuốc bền với β-lactamase;

- Nhóm thế tại C3 mang dáng dấp cysteamine S-C-C-N (như thienamycin): tác dụng tốt lên trực khuẩn mủ xanh.

5.4. β-lactam nhóm monobactam [34,35]

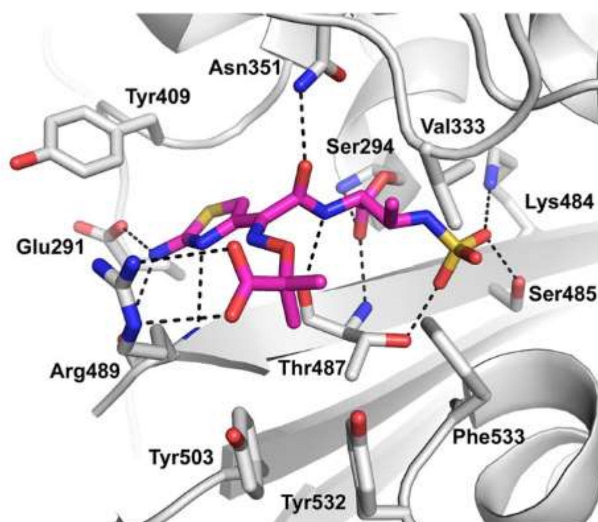
Aztreonam, có nguồn gốc tổng hợp, là kháng sinh duy nhất thuộc nhóm cấu trúc monobactam được FDA cấp phép lưu hành, có cơ chế tương tự như các β-lactam khác. Đặc biệt aztreonam có ái lực cao trên PBP3 của nhiều vi khuẩn gram âm hiếu khí, kể cả *P. aeruginosa,* nhưng không có tác dụng trên vi khuẩn gram dương (do ái lực kém trên PBP của các vi khuẩn gram dương).

Aztreonam có cấu trúc mạch nhánh tại amide ngoại vòng tương tự như ceftazidime (Hình 5.2.51). Vì vậy, mạch nhánh tham gia gắn kết với PBP3 của *P. aeruginosa* tương tự như ceftazidime.

Hình 5.2.51. Ceftazidime và aztreonam có chung cấu trúc mạch nhánh tại amide ngoại vòng

Cấu trúc tinh thể của phức hợp aztreonam-acyl-PBP3 cho thấy vòng aminothiazole và nhóm carboxylate của cấu trúc oximino tham gia tạo nhiều liên kết hydro với PBP3 (Glu291, Arg489). Nhóm sulfo vừa rút điện tử làm tăng hoạt tính của vòng β-lactam,

vừa tham gia gắn kết chặt chẽ với các amino acid như Lys484, Ser485, and Thr487 (Hình 5.2.52). Nhóm methyl ở C4 của vòng β-lactam làm tăng độ bền của vòng đối với β-lactamase.



Hình 5.2.52. Cấu trúc tinh thể của phức hợp aztreonam-acyl-PBP3 của *P. aeruginosa* [35]

Aztreonam chỉ có tác dụng trên vi khuẩn gram âm hiếu khí như *Enterobacteriaceae* trừ *Enterobacter, H. influenzae, N. gonorrhoeae, Salmonella, Shigella* và *P. aeruginosa.*

Aztreonam ít bị dị ứng chéo với các kháng sinh β-lactam khác (trừ ceftazidime) và có thể dùng thay thế trong các trường hợp bệnh nhân có tiền sử dị ứng β-lactam.

Aztreonam bền với nhiều β-lactamase nhưng không bền với cephalosporinase nhóm I. Thuốc hầu như không hấp thu đường uống nên được dùng dưới dạng tiêm tĩnh mạch hoặc tiêm bắp.

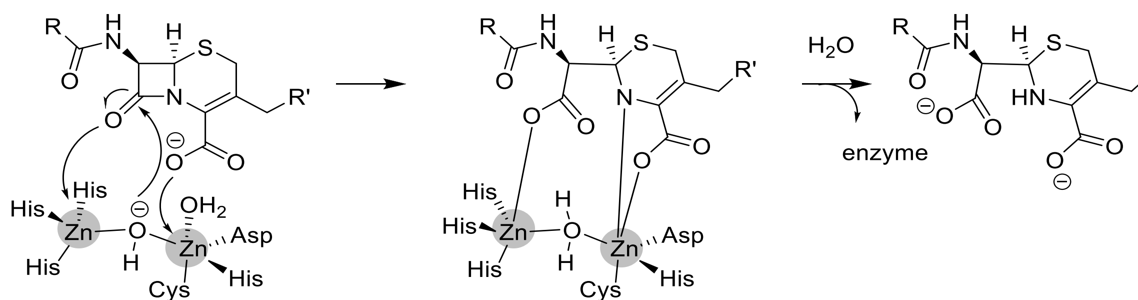
6. CÁC THUỐC ỨC CHẾ β-LACTAMASE

6.1. Phân loại các β-lactamase

Hệ thống phân loại Ambler được sử dụng rộng rãi nhất, chia các β-lactamase thành 4 nhóm A, B, C, D, dựa trên sự tương đồng về trình tự chuỗi protein. Nhóm A, C, D là serine-β-lactamase (SBL); nhóm B là metallo-β-lactamase (MBL).

+ Serine-β-lactamase có cơ chế tác dụng tương tự như PBP với nhóm hydroxyl của serine tấn công vòng β-lactam. Trong khi PBP bị ức chế vì tạo sản phẩm cộng hợp bền với β-lactam thì sản phẩm cộng hợp với SBL lại có thể được thủy phân nhanh chóng để trả lại enzyme hoạt động, nhờ trong cấu trúc SBL có một amino acid đóng vai trò là một base tham gia xúc tác phản ứng thủy phân.

+ Metallo-β-lactamase có một hoặc hai ion Zn^{2+} tham gia vào cơ chế thủy giải vòng β-lactam. Trong trường hợp MBL có hai ion Zn^{2+}, cả hai cùng tạo phức với một ion OH^-, chính ion OH^- này tấn công mở vòng β-lactam. Nhóm enzyme này hiện nay chỉ có thể bị ức chế bởi taniborbactam.



Hình 5.2.53. Cơ chế tác dụng của MBL có hai ion Zn^{2+}

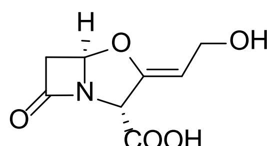
Những β-lactamase có thể bất hoạt các penicillin, các cephalosporin thế hệ 1, 2, 3 và aztreonam được gọi là những β-lactamase phổ rộng - Extended-spectrum β-lactamases (ESBLs).

Càng ngày càng xuất hiện các β-lactamase mới. Năm 2009 xuất hiện chủng "siêu vi khuẩn" sản xuất New Delhi metallo-β-lactamase-1 (NDM-1) - một loại metallo-β-lactamase có khả năng bất hoạt hầu hết các kháng sinh β-lactam, kể cả nhóm carbapenem. Cuộc chiến giằng co giữa vi khuẩn và các nhà khoa học trong việc tìm ra kháng sinh mới và chất ức chế mới vẫn chưa có hồi kết.

6.2. Các nhóm thuốc ức chế β-lactamase

6.2.1. Thuốc ức chế β-lactamase có cấu trúc giống β-lactam [36,37]

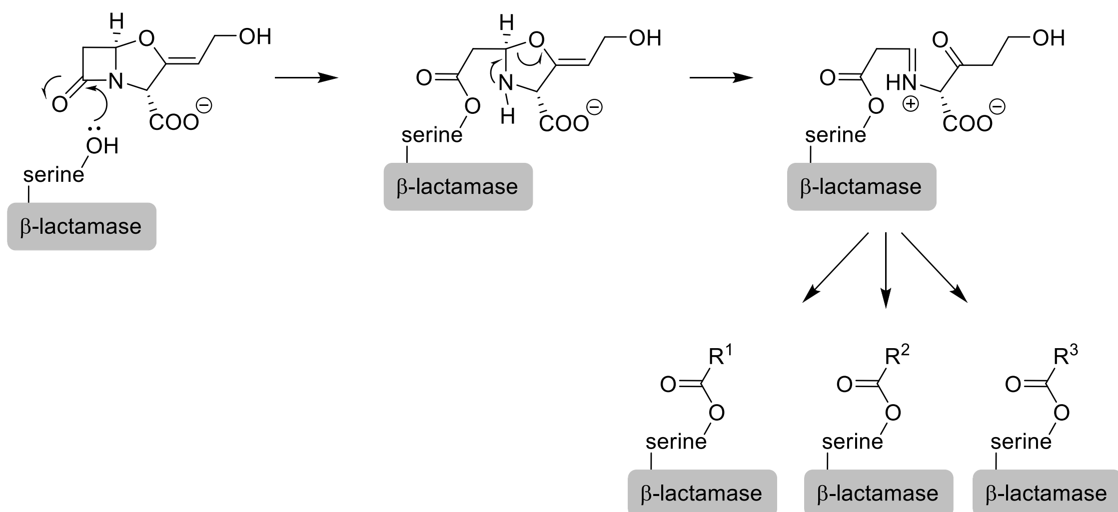
Thuốc ức chế β-lactamase đầu tiên được tìm ra (năm 1976) là clavulanic acid, một hợp chất được phân lập từ môi trường nuôi cấy nấm men *Streptomyces clavuligerus*. Clavulanic acid có cấu trúc giống với penicillin nhưng không có mạch nhánh acylamino, lưu huỳnh (vòng thiazolidine) được thay bằng oxygen (vòng oxazolidine) và có thêm mạch nhánh 3-hydroxyethylidene.



Hình 5.2.54. Clavulanic acid

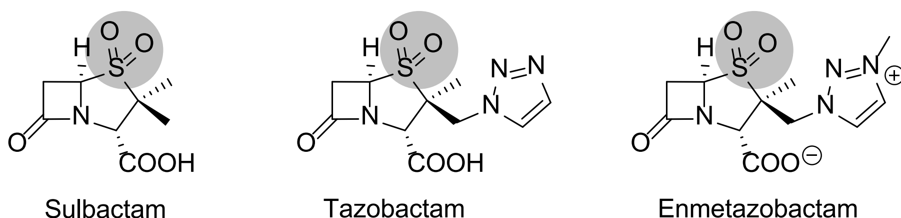
Sự tương đồng về cấu trúc của clavulanic acid với các penicillin cho thấy sự tương đồng về tương tác với β-lactamase và cơ chế tác dụng. Câu hỏi được đặt ra ở đây là: tại sao clavulanic acid lại có khả năng ức chế β-lactamase trong khi các penicillin lại bị bất hoạt? Mặt khác, khi sử dụng một mình, clavulanic acid gần như không có tác dụng kháng sinh; điều này cho thấy mạch nhánh acylamino tại C6 của khung penam cần thiết cho tác động diệt khuẩn của các kháng sinh họ β-lactam.

Bước đầu tiên là phản ứng acyl hóa với serine tại trung tâm xúc tác của β-lactamase, vòng β-lactam của clavulanic acid bị mở ra tạo sản phẩm cộng hợp với enzyme. Sau đó xảy ra chuỗi phản ứng tạo ra hàng loạt sản phẩm phân hủy khác nhau. Các sản phẩm này duy trì trạng thái bị acyl hóa của serine làm cho β-lactamase bị bất hoạt không thuận nghịch (Hình 5.2.55).



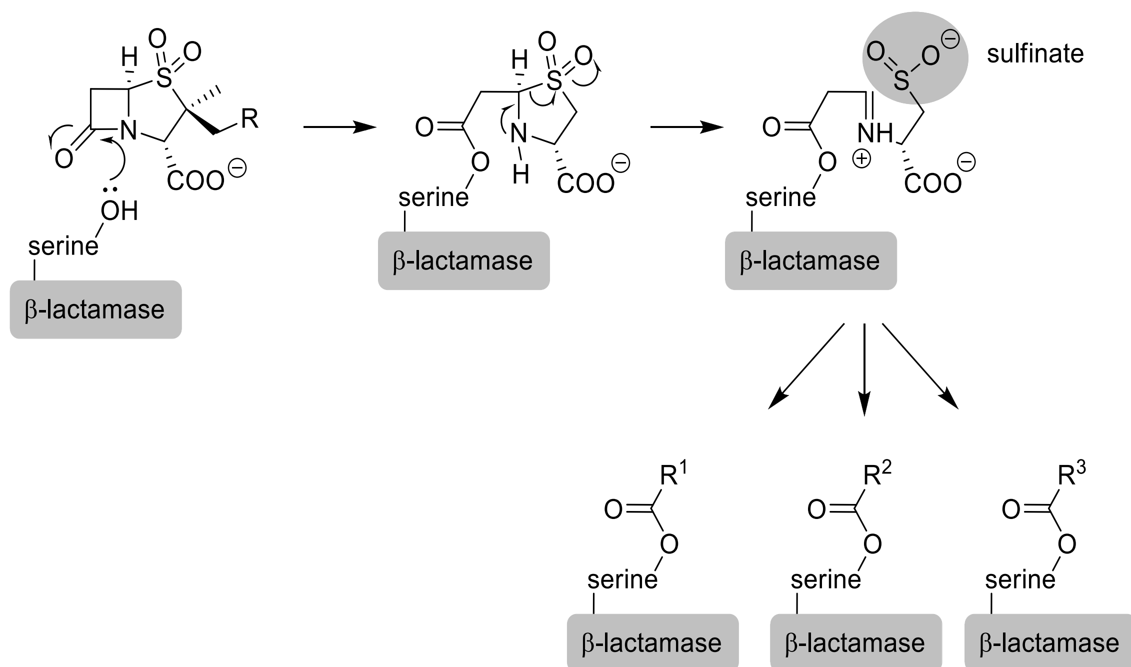
Hình 5.2.55. Cơ chế bất hoạt β-lactamase của clavulanic acid

Dựa vào cơ chế ức chế không thuận nghịch của clavulanic acid, các thuốc ức chế β-lactamase tổng hợp lần lượt ra đời: sulbactam, tazobactam và enmetazobactam (đang thử lâm sàng giai đoạn 3). Các thuốc này cũng có cấu trúc tương đồng với penicillin nhưng lưu huỳnh của vòng thiazolidine được thay bằng nhóm sulfone (Hình 5.2.56). Tương tự clavulanic acid, các chất này cũng không có nhánh acylamino tại C6.



Hình 5.2.56. Sulbactam, tazobactam và enmetazobactam

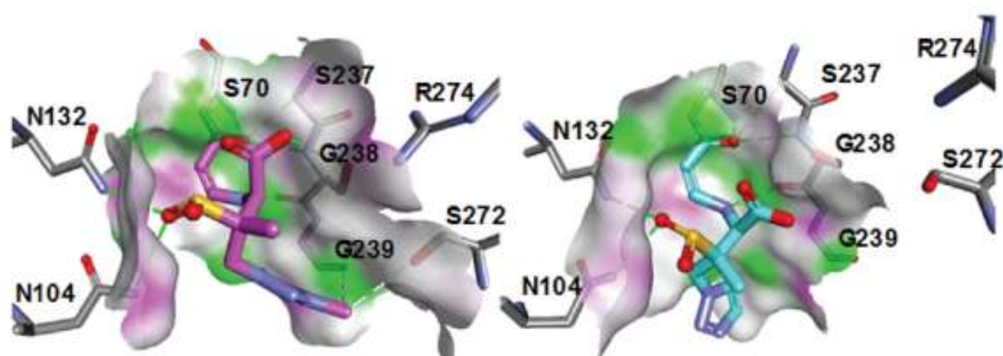
Các sulfone phản ứng với serine tại trung tâm xúc tác của β-lactamase, mở vòng β-lactam và tạo thành sulfinate (Hình 5.2.57). Nhóm sulfinate tích điện âm tạo liên kết tĩnh điện với các amino acid tích điện dương của β-lactamase.



Hình 5.2.57. Cơ chế tác dụng của các thuốc nhóm sulfone

Sulbactam là thuốc đầu tiên trong nhóm sulfone, có IC_{50} cao hơn clavulanic acid. Thêm vòng triazole ở tazobactam làm cải thiện khả năng ức chế (giảm IC_{50}).

Enmetazobactam là thuốc mới nhất, chỉ khác tazobactam một nhóm methyl gắn trên vòng triazole nhưng có khả năng ức chế các ESBL mạnh hơn tazobactam. Nguyên nhân thứ nhất là enmetazobactam là một ion lưỡng tính (có nhóm carboxylate tích điện âm và vòng triazolium tích điện dương) nên có khả năng vượt qua màng ngoài của thành tế bào vi khuẩn gram âm tốt hơn (tương tự ampicillin, amoxicillin). Nguyên nhân thứ hai là do nhóm methyl tạo được liên kết với các amino acid tương tự liên kết hydro ở trung tâm xúc tác của β-lactamase làm tăng độ bền của phức hợp thuốc-enzyme (Hình 5.2.58) [38].



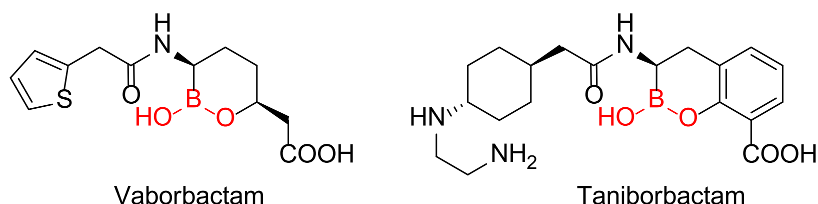
Hình 5.2.58. Kết quả mô phỏng động lực học phân tử (molecular dynamics) so sánh liên kết giữa enmetazobactam (bên trái) và tazobactam (bên phải) với một β-lactamase. Nhóm methyl của enmetazobactam tạo liên kết với amino acid G239 và S272 [38]

Các thuốc ức chế β-lactamase không có hoạt tính kháng khuẩn/hoạt tính yếu nên chỉ được sử dụng kết hợp với một kháng sinh β-lactam (xem Bảng 5.2.3).

6.2.2. Thuốc ức chế β-lactamase không có cấu trúc giống β-lactam

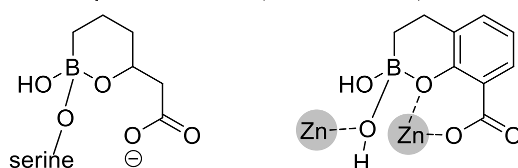
6.2.2.1. Nhóm dẫn xuất dạng vòng của boronic acid

Vaborbactam kết hợp với meropenem được FDA phê duyệt năm 2017, có khả năng ức chế carbapenemase nhóm A, các β-lactamase khác nhóm A, C (không có tác dụng trên nhóm D và MBL) [39]. Taniborbactam (đang thử lâm sàng giai đoạn 3) cho thấy có phổ ức chế rộng hơn vaborbactam, có tác dụng trên β-lactamase nhóm A, B, C và D và là thuốc đầu tiên ức chế được enzyme nhóm MBL.



Hình 5.2.59. Vaborbactam và taniborbactam

Tương tự như vaborbactam, cấu trúc tinh thể của taniborbactam với một SBL cho thấy nguyên tử boron của taniborbactam tạo liên kết cộng hóa trị với nhóm -OH của serine ở trung tâm xúc tác của β-lactamase (Hình 5.2.60).

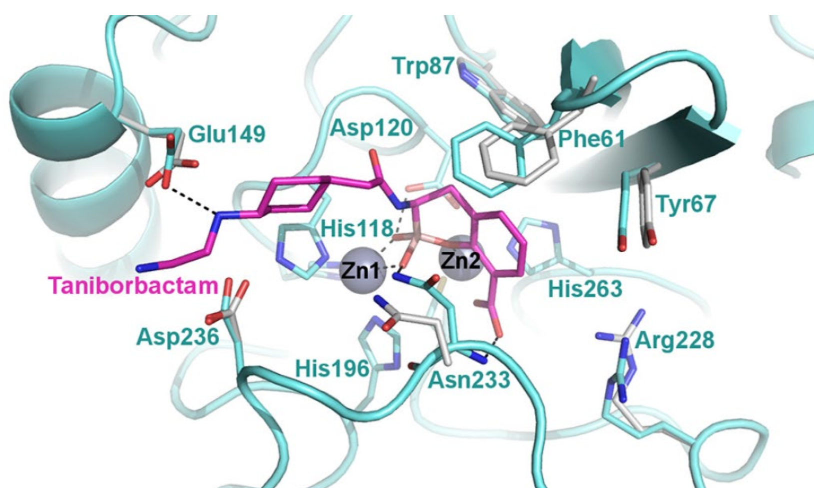


Hình 5.2.60. Cơ chế ức chế β-lactamase (SBL và MBL) của dẫn xuất boronic acid

Trong khi đó, cấu trúc tinh thể của taniborbactam với một MBL giải thích cơ chế ức chế hoàn toàn khác: nguyên tử boron tạo liên kết với nhóm OH^- của phức hợp Zn^{2+}-OH^--Zn^{2+} của trung tâm xúc tác. Trong khi đó, oxygen của vòng oxaborinane và của nhóm carboxylate tạo phức với Zn^{2+} còn lại. Điều đáng chú ý là cấu trúc benzoic acid kết hợp với boronic acid dạng vòng là quan trọng để có thể gắn kết với MBL.

Hơn nữa, vòng cyclohexane của mạch nhánh "bắt chước" cấu trúc vòng thơm trên mạch nhánh của các kháng sinh β-lactam nên tạo được kiểu liên kết tương tự ở trung tâm xúc tác của β-lactamase. Nhóm NH gắn với vòng cyclohexane tạo liên kết hydro với Glu149 của VIM-2 (một MBL) củng cố ái lực của thuốc trên nhóm enzyme này (Hình 5.2.61).

Cấu trúc amino phân cực trên mạch nhánh của taniborbactam còn giúp tăng khả năng thấm qua màng ngoài của thành tế bào vi khuẩn gram âm (tương tự ampicillin và amoxicillin) [40,41].

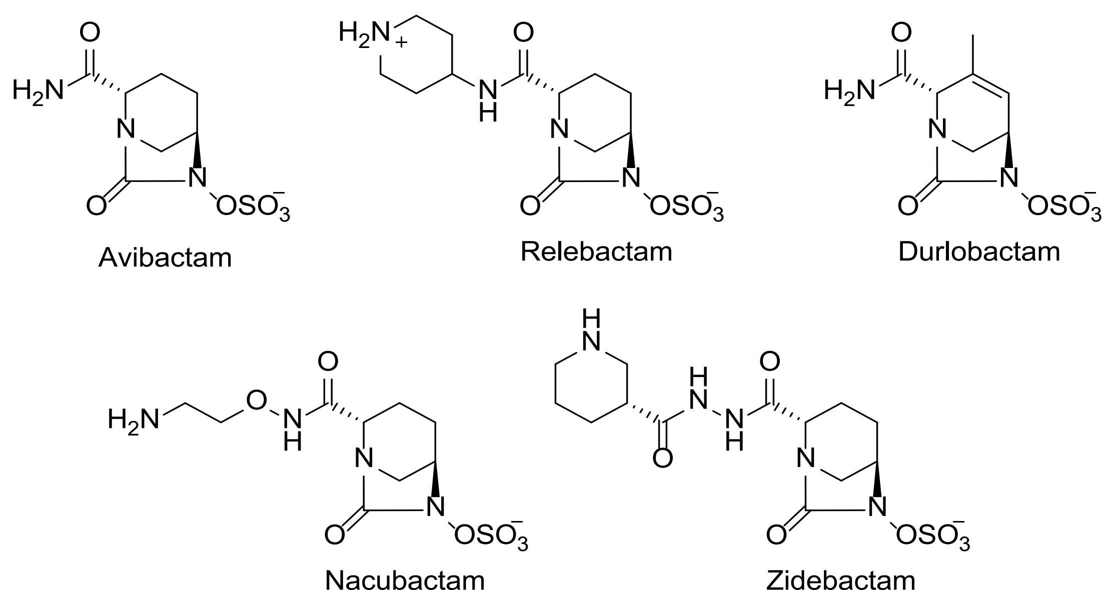


Hình 5.2.61. Cấu trúc tinh thể của phức hợp VIM-2 (một loại MBL) và taniborbactam [41]

Tuy tạo liên kết cộng hóa trị với đích tác dụng, vaborbactam và taniborbactam đều là thuốc ức chế thuận nghịch.

6.2.2.2. Nhóm có cấu trúc 1,6-diazabicyclo[3,2,1]-octane

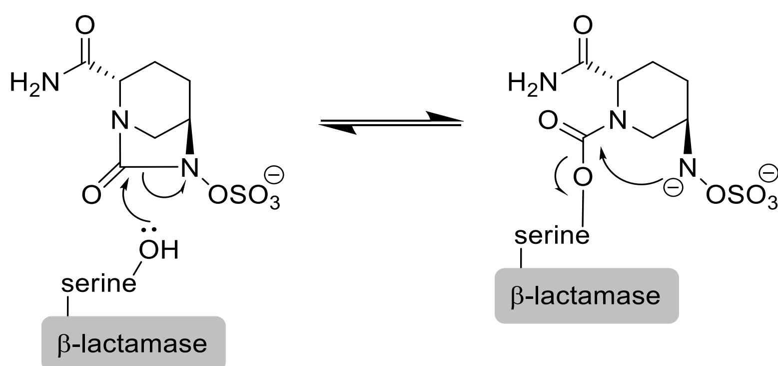
Avibactam kết hợp với ceftazidime được FDA phê duyệt năm 2014. Phối hợp giữa relebactam, imipenem và cilastatin được FDA phê duyệt năm 2020. Durlobactam là một dẫn xuất của avibactam (đang được thử lâm sàng giai đoạn 3, kết hợp với sulbactam). Durlobactam có thêm nối đôi trong vòng 6 cạnh và một nhóm methyl. Sự thay đổi cấu trúc này vừa làm tăng khả năng ức chế β-lactamase nhóm A và C vừa mở rộng phổ trên nhóm D. Nacubactam và zidebactam cũng đang được thử lâm sàng giai đoạn 3.



Hình 5.2.62. Chất ức chế β-lactamase có cấu trúc 1,6-diazabicyclo[3,2,1]-octane

Serine của β-lactamase tấn công vào nhóm carbamoyl của avibactam (và các dẫn xuất) gây mở vòng. Nhóm sulfamate N-OSO_3^- giúp tạo tương tác tĩnh điện với trung tâm xúc tác của enzyme (tương tự như nhóm carboxylate của các kháng sinh β-lactam).

Khác với các thuốc ức chế không thuận nghịch β-lactamase (như clavulanic acid), phản ứng acyl hóa giữa enzyme và các thuốc nhóm 1,6-diazabicyclo[3,2,1]-octane là phản ứng thuận nghịch. Do đó nhóm thuốc này là thuốc ức chế thuận nghịch β-lactamase [37,42,43].



Hình 5.2.63. Cơ chế tác dụng của avibactam [37]

Điều đáng chú ý là các chất trong nhóm có cấu trúc 1,6-diazabicyclo[3,2,1]-octane vừa ức chế β-lactamase, vừa có thể ức chế PBP2 nên có hoạt tính kháng khuẩn trên *Enterobacteriaceae* kháng carbapenem, *P. aeruginosa* đa kháng thuốc và *A. baumannii* [44],…

Bảng 5.2.3. Tóm tắt các thuốc ức chế β-lactamase

Tên thuốc	Các β-lactamase bị ức chế	Phối hợp thường gặp
Nhóm có cấu trúc giống β-lactam		
Clavulanic acid	Chủ yếu enzyme nhóm A	amoxicillin, ticarcillin, cefpodoxime, cefixime
Sulbactam	Chủ yếu enzyme nhóm A. Hoạt tính yếu hơn clavulanic acid	ampicillin, cefoperazone, ceftriaxone
Tazobactam	Chủ yếu enzyme nhóm A. Hoạt tính mạnh hơn sulbactam và tương đương clavulanic acid	piperacillin, ceftolozane
Enmetazobactam	Chủ yếu enzyme nhóm A. Hoạt tính mạnh hơn tazobactam	cefepime
Nhóm dẫn xuất dạng vòng của boronic acid		
Vaborbactam	Carbapenemase nhóm A, các β-lactamase khác nhóm A, C	meropenem
Taniborbactam	Enzyme nhóm A, B, C, D	cefepime
Nhóm có cấu trúc 1,6-diazabicyclo[3,2,1]-octane		
Avibactam	Enzyme nhóm A, C, và một vài enzyme nhóm D. Có khả năng ức chế PBP2	ceftazidime
Relebactam	Enzyme nhóm A, C, kể cả *K. pneumoniae* sản xuất carbapenemase đề kháng với avibactam (KPC-3).	imipenem-cilastatin
Durlobactam	Tăng hoạt tính trên enzyme nhóm A, C, mở rộng phổ trên enzyme nhóm D so với avibactam. Có khả năng ức chế PBP2	sulbactam
Nacubactam	Ức chế enzyme nhóm A, C. Ức chế PBP2 và có hoạt tính kháng khuẩn trên *Enterobacteriaceae* cao hơn avibactam [44]	meropenem
Zidebactam	Ức chế enzyme nhóm A, C. Ái lực với PBP2 và hoạt tính kháng khuẩn trên *Enterobacteriaceae* và *Pseudomonas*. Phối hợp cefepime/zidebactam có hoạt tính trên *Enterobacteriaceae* và *P. aeruginosa* tiết ra cả 4 nhóm β-lactamase [45]	cefepime

Câu hỏi tự lượng giá

1. Giải thích tính kém bền của vòng β-lactam và nêu các tác nhân có thể gây mở vòng β-lactam của penicillin G?

2. Nêu đặc điểm chung về cấu trúc của nhóm cephamycin giúp nhóm này đề kháng với β-lactamase. Giải thích cơ chế đề kháng.

Danh mục từ viết tắt

CRE: carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*

CRPA: carbapenem-resistant *P. aeruginosa*

ESBL: Extended-spectrum beta-lactamase

I: injection

MBL: Metallo-beta-lactamase

MRSA: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

MSSA: Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*

NDM-1: New Delhi metallo-β-lactamase-1

PBP: Penicillin-Binding Protein

O: oral

SBL: Serine-beta-lactamase

vk: vi khuẩn

Tài liệu tham khảo

1. Bush K, Bradford PA. β-Lactams and β-lactamase inhibitors: An overview. Cold Spring Harb Perspect Med. 2016 Aug; 6(8):a025247.

2. Fleming A. On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. Br J Exp Pathol. 1929 Jun; 10(3):226-236.

3. Chain E, Florey HW, Gardner AD, Heatley NG, Jennings MA, Orr-Ewing J, et al. Penicillin as a chemotherapeutic agent. The Lancet. 1940 Aug; 236(6104):226-228.

4. Gentry EJ. Antibiotics and Antimicrobial Agents. In: Lemke TL, Williams DA, Roche VF, Zito SW, editors. Foye's Principles of Medicinal Chemistry. 7th ed. United States: Lippincott Williams & Wilkins; 2013. pp.1106-1110.

5. Patrick GL. An introduction to medicinal chemistry. 5th ed. Oxford: Oxford University Press; 2013. Chapter 19, Antibacterial agents; pp.421-445.

6. Scheffers DJ, Pinho MG. Bacterial cell wall synthesis: new insights from localization studies. Microbiol Mol Biol Rev. 2005 Dec; 69(4):585-607.

7. Delcour AH. Outer Membrane Permeability and Antibiotic Resistance. Biochim Biophys Acta. 2009 May; 1794(5):808-816.

8. Lim D, Strynadka N. Structural basis for the β lactam resistance of PBP2a from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Nat Struct Mol Biol. 2002 Oct; 9:870-876.

9. Itoh T, Watanabe N, Ishida M, Tsuda Y, Koyano S, Tsunoi T, Shimada H, Yamada H. Stereoselective disposition of sulbenicillin in humans. Antimicrob Agents Chemother. 1998 Feb; 42(2):325-331.

10. Hansen I, Jacobsen E, Weis J. Pharmacokinetics of sulbenicillin, a new broad-spectrum semisynthetic penicillin. Clin Pharmacol Ther. 1975 Mar; 17(3):339-347.

11. Morimoto S, Nomura H, Fugono T, Minami I, Ishiguro T, Masuda T. Semisynthetic β-lactam antibiotics. III Structure-activity relationships of α-sulfopenicillins. J Antibiotics.1973 Mar; 26(3):146-152.

12. Balakrishnan I, Koumaki V, Tsakris A. Temocillin: is this the right momentum for its global use? Future Microbiol. 2019 Jan; 14(2):81-83.

13. Sacco MD, Kroeck KG, Kemp MT, Zhang X, Andrews LD, Chen Y. Influence of the α-methoxy group on the reaction of temocillin with *Pseudomonas aeruginosa* PBP3 and CTX-M-14 β-lactamase. Antimicrob Agents Chemother. 2019 Dec; 64(1):e01473-19.

14. Harold C, Neu M.D. Amdinocillin: A novel penicillin; antibacterial activity, pharmacology and clinical use. Pharmacotherapy. 1985 Jan-Feb; 5(1):1-10.

15. Graninger W. Pivmecillinam - therapy of choice for lower urinary tract infection. Int J Antimicrob Agents. 2003 Oct; 22(2):73-78.

16. MacDougall C. Penicillins, Cephalosporins, and Other β-Lactam Antibiotics. In: Brunton LL, Hilal-Dandan R, Knollmann BC, editors. Goodman&Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. 13th ed. United States: McGraw-Hill Education; 2018. pp.1023-1038.

17. Dược điển Việt Nam 5. Nhà xuất bản Y học; 2018.

18. Alekseev VG. Metal complexes of penicillins and cephalosporins (Review). Pharm Chem J. 2012 Feb; 45(11):679-697.

19. Kamei C, Sugimoto Y, Tasaka K. The effects of cephem antibiotics and related compounds on the aldehyde dehydrogenase in rat liver mitochondria. Biochemical Pharmacology. 1987 Jun; 36(12):1933-1939.

20. Neu HC, Scully BE. Activity of Cefsulodin and Other Agents Against *Pseudomonas aeruginosa.* Reviews of Infectious Diseases. 1984 Sep-Oct; 6(Suppl 3):S667-S677.

21. Jones RN, Barry AL. Cefoperazone: a review of its antimicrobial spectrum, beta-lactamase stability, enzyme inhibition, and other in vitro characteristics. Rev Infect Dis. 1983 Mar-Apr; 5 Suppl 1:S108-26.

22. Ku YH, Yu WL. Cefoperazone/sulbactam: New composites against multiresistant gram negative bacteria? Infect Genet Evol. 2021 Mar; 88:104707.

23. Neu HC. Beta-Lactam antibiotics: structural relationships affecting in vitro activity and pharmacologic properties. Rev Infect Dis. 1986 Jul-Aug; 8 Suppl 3:S237-59.

24. Toda A, Ohki H, Yamanaka T, Murano K, Okuda S, Kawabata K et al. Synthesis and SAR of novel parenteral anti-pseudomonal cephalosporins: Discovery of FR264205. Bioorg Med Chem Lett. 2008 Sep; 18(17):4849-4852.

25. Naito T, Aburaki S, Kamachi H, Narita Y, Okumura J, Kawaguchi H. Synthesis and structure-activity relationships of a new series of cephalosporins, BMY-28142 and related compounds. J Antibiot (Tokyo). 1986 Aug; 39(8); 1092-1107.

26. Otero LH, Rojas-Altuve A, Llarrull LI, Carrasco-López C, Kumarasiri M, Lastochkin E, et al. How allosteric control of *Staphylococcus aureus* penicillin binding protein 2a enables methicillin resistance and physiological function. Proc Natl Acad Sci USA. 2013 Oct; 110(42):16808-16813.

27. Acebrón I, Chang M, Mobashery S, Hermoso JA. The allosteric site for the nascent cell wall in Penicillin-Binding Protein 2a: An Achilles' heel of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Curr Med Chem. 2015; 22(14):1678-1686.

28. Sato T, Yamawaki K. Cefderocol: Discovery, chemistry, and in vivo profiles of a novel siderophore cephalosporin. Clin Infect Dis. 2019 Dec; 69(Suppl 7):S538-S543.

29. Aoki T, Yoshizawa H, Yamawaki K, Yokoo K, Sato J, Hisakawa S, et al. Cefiderocol (S-649266), a new siderophore cephalosporin exhibiting potent activities against *Pseudomonas aeruginosa* and other gram-negative pathogens including multi-drug resistant bacteria: Structure activity relationship. Eur J Med Chem. 2018 Jul; 155:847-868.

30. Zhanel GG, Golden AR, Zelenitsky S, Wiebe K, Lawrence CK, Adam HJ, et al. Cefiderocol: A siderophore cephalosporin with activity against carbapenem-resistant and multidrug-resistant gram-negative bacilli. Drugs. 2019 Feb; 79(3):271-289.

31. Sunagawa M, Matsumura H, Sumita Y, Nouda H. Structural features resulting in convulsive activity of carbapenem compounds: effect of C-2 side chain. J Antibiot (Tokyo). 1995 May; 48(5):408-416.

32. Rubio A, Pucci MJ, Jain A. Characterization of SPR994, an Orally Available Carbapenem, with Activity Comparable to Intravenously Administered Carbapenems. ACS Infect Dis. 2018 Oct 12; 4(10):1436-1438.

33. Papp-Wallace KM, Endimiani A, Taracila MA, Bonomo RA. Carbapenems: past, present, and future. Antimicrob Agents Chemother. 2011 Nov; 55(11):4943-4960.

34. Brogden RN, Heel RC. Aztreonam. Drugs. 1986 Feb; 31(2):96-130.

35. Han S, Zaniewski RP, Marr ES, Lacey BM, Tomaras AP, Evdokimov A, et al. Structural basis for effectiveness of siderophore-conjugated monocarbams against clinically relevant strains of *Pseudomonas aeruginosa*. Proc Natl Acad Sci USA. 2010 Dec; 107(51):22002-22007.

36. Drawz SM, Bonomo RA. Three decades of β-lactamase inhibitors. Clin Microbiol Rev. 2010 Jan; 23(1):160-201.

37. González-Bello C, Rodríguez D, Pernas M, Rodríguez A, Colchón E. β-Lactamase inhibitors to restore the efficacy of antibiotics against superbugs. J Med Chem. 2020 Oct; 63(5):1859-1881.

38. Papp-Wallace KM, Bethel CR, Caillon J, Barnes MD, Potel G, Bajaksouzian S, et al. Beyond piperacillin-tazobactam: cefepime and AAI101 as a potent β-lactam-β-lactamase inhibitor combination. Antimicrob Agents Chemother. 2019 Apr; 63(5):e00105-19.

39. Lomovskaya O, Sun D, Rubio-Aparicio D, Nelson K, Tsivkovski R, Griffith DC, et al. Vaborbactam: Spectrum of beta-lactamase inhibition and impact of resistance mechanisms on activity in *Enterobacteriaceae*. Antimicrob Agents Chemother. 2017 Oct; 61(11):e01443-17.

40. Liu B, Trout REL, Chu GH, McGarry D, Jackson RW, Hamrick JC, et al. Discovery of taniborbactam (VNRX-5133): A broad-spectrum serine- and metallo-β-lactamase inhibitor for carbapenem-resistant bacterial infections. J Med Chem. 2020 Mar;63(6):2789-2801.

41. Hamrick JC, Docquier JD, Uehara T, Myers CL, Six DA, Chatwin CL, et al. VNRX-5133 (taniborbactam), a broad-spectrum inhibitor of serine- and metallo-β-lactamases, restores activity of cefepime in *Enterobacterales* and *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother. 2020 Feb; 64(3):e01963-19.

42. Hachem R, Reitzel R, Rolston K, Chaftari AM, Raad I. Antimicrobial activities of ceftazidime-avibactam and comparator agents against clinical bacteria isolated from patients with cancer. Antimicrob Agents Chemother. 2017 Mar; 61(4):e02106-16.

43. Haidar G, Clancy CJ, Chen L, Samanta P, Shields RK, Kreiswirth BN, et al. Identifying spectra of activity and therapeutic niches for ceftazidime-avibactam and imipenem-relebactam against carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. Antimicrob Agents Chemother. 2017 Aug; 61(9):e00642-17.

44. Morinaka A, Tsutsumi Y, Yamada M, Suzuki K, Watanabe T, Abe T, Furuuchi T, Inamura S, Sakamaki Y, Mitsuhashi N, Ida T, Livermore DM. OP0595, a new diazabicyclooctane: mode of action as a serine β-lactamase inhibitor, antibiotic and β-lactam 'enhancer'. J Antimicrob Chemother. 2015 Oct; 70(10):2779-2786.

44. Sader HS, Rhomberg PR, Flamm RK, Jones RN, Castanheira M. WCK 5222 (cefepime/zidebactam) antimicrobial activity tested against Gram-negative organisms producing clinically relevant β-lactamases. J Antimicrob Chemother. 2017 Jun 1; 72(6):1696-1703.

5.3. NHÓM AMINOGLYCOSIDE

Các hoạt chất được đề cập

Streptomycin	Kanamycin	Arbekacin
Gentamicin	Amikacin	Netilmicin
Paromomycin	Tobramycin	Plazomicin
Neomycin	Dibekacin	Spectinomycin

1. GIỚI THIỆU

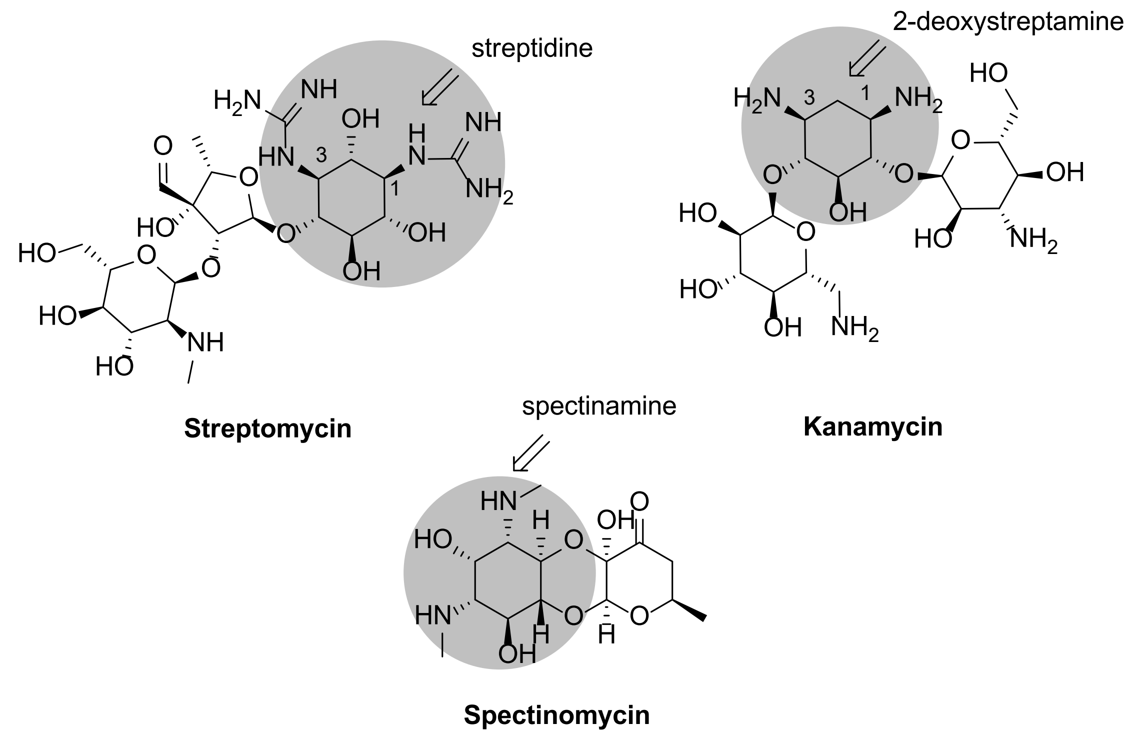
Streptomycin là thuốc được tìm ra đầu tiên trong nhóm aminoglycoside (AG) (còn được gọi là aminoside), được Selman Waksman (nhận giải Nobel Y học năm 1952) phân lập từ vi khuẩn sống trong đất *Streptomyces griseus* và được sử dụng trong lâm sàng từ năm 1944. Mặc dù không phải là kháng sinh đầu tiên được tìm ra, streptomycin là kháng sinh đầu tiên được phân lập từ vi khuẩn. Hơn nữa, streptomycin là thuốc đầu tiên có hiệu quả điều trị bệnh lao nên việc khám phá ra thuốc này đánh dấu bước ngoặt quan trọng trong ngành y dược [1].

Ngoài các AG có nguồn gốc tự nhiên từ *Streptomyces*, tên kháng sinh kèm với tiếp vị ngữ *mycin*; một số kháng sinh tự nhiên khác thuộc nhóm này được ly trích từ giống vi khuẩn *Micromonospora,* phân biệt bằng tiếp vị ngữ *micin* trong tên gọi.

Các AG có hoạt tính mạnh, phổ kháng khuẩn rộng nhất là đối với vi khuẩn gram âm, tuy nhiên nhiều độc tính và dễ bị đề kháng. Việc bán tổng hợp nhằm mục đích khắc phục hai nhược điểm nêu trên, tuy nhiên các sản phẩm bán tổng hợp cũng chỉ giải quyết được vấn đề đề kháng, độc tính của các AG bán tổng hợp đôi khi còn trầm trọng hơn các AG thiên nhiên. Điều này làm hạn chế việc sử dụng của họ kháng sinh này, cũng như làm các hãng dược không đầu tư nhiều cho vấn đề bán tổng hợp AG.

2. ĐẶC ĐIỂM CẤU TRÚC

Kháng sinh họ AG chứa genin có cấu trúc **1,3-diaminoinositol** như streptidine, 2-deoxystreptamine hoặc spectinamine. Vòng này thường gắn với aminosaccharide thông qua liên kết glycoside (Hình 5.3.1, Bảng 5.3.1)[1].



Hình 5.3.1. Ví dụ một số aminoglycoside có cấu trúc dẫn xuất 1,3-diaminoinositol

Bảng 5.3.1. Các kháng sinh họ aminoglycoside thông dụng

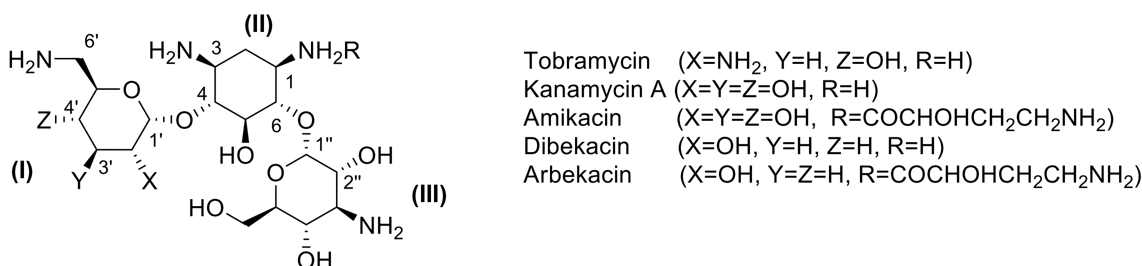
Genin	Spectinamine	Streptidine	2-Desoxystreptamine	
			tạo glycoside ở 4,5 (*)	*tạo glycoside ở 4,6*
AG thiên nhiên	Spectinomycin	Streptomycin	Neomycin Paramomycin Lividomycin Ribostamycin	Kanamycin Gentamicin Tobramycin Sisomicin
AG bán tổng hợp		Dihydro-streptomycin (*)		Amikacin Dibekacin Netilmicin Arbekacin Plazomicin

(*): *rất độc, không dùng đường tiêm, có thể uống khi cần có tác động tại chỗ.*

3. QUAN HỆ CẤU TRÚC - TÁC DỤNG [2]

- Cấu trúc phải toàn vẹn (genin và saccharide) mới có hoạt tính kháng sinh.

- Ngoại trừ streptomycin và spectinomycin có cấu trúc đặc biệt, các AG còn lại đều có cấu trúc khá tương đồng với genin 2-desoxystreptamine nằm giữa **(II)**, tạo 2 liên kết glycoside với 2 nhóm aminosaccharide **(I)** và **(III)** ở 2 bên. Trong số này, các AG chứa liên kết glycoside ở vị trí 4 và 5 (Bảng 5.3.1) thường có độc tính cao trên thận, nên không được dùng bằng đường tiêm. Các AG dùng chủ yếu trong lâm sàng ít độc tính hơn, có 2 liên kết glycoside ở vị trí 4,6, đa số có cấu trúc chung như Hình 5.3.2.



Hình 5.3.2. Cấu trúc tổng quát của đa số các AG có 2 liên kết glycoside ở vị trí 4,6

- Aminosaccharide **(I)** cực kỳ quan trọng cho phổ kháng khuẩn đặc trưng của AG và là đích chủ yếu cho những enzyme bất hoạt của vi khuẩn (xem phần “Cơ chế kháng khuẩn”).

+ Nhóm chức NH_2 tại vị trí 6′ và 2′ đặc biệt quan trọng; khi quan sát hoạt tính của các kanamycin người ta nhận thấy dường như NH_2 ở 6′ quan trọng hơn NH_2 ở 2′: Hoạt tính của kanamycin B (6′-NH_2, 2′-NH_2) > kanamycin A (6′-NH_2, 2′-OH) > kanamycin C (6′-OH, 2′-NH_2). Thực tế kanamycin sử dụng trong lâm sàng là kanamycin A với hàm lượng kanamycin B hiện diện không quá 4% và hoàn toàn không có kanamycin C.

+ Methyl hóa tại C6′ hoặc tại 6′-NH_2 không hạ thấp đáng kể hoạt tính kháng khuẩn, nhưng làm kháng lại sự acetyl hóa bởi enzyme vi khuẩn trên 6′-NH_2 (trường hợp gentamicin).

+ Loại nhóm 3′-OH hay 4′-OH hay cả hai nhóm (ví dụ, dibekacin, 3,4-dideoxykanamycin B, gentamicin và sisomicin) không làm giảm hoạt tính kháng khuẩn, đồng thời những dẫn chất này không bị bất hoạt bởi phosphotransferase - enzyme phosphoryl hóa nhóm 3′-OH. Các AG bị phosphoryl hóa vị trí 3′ rõ ràng có ái lực rất thấp với ribosome của vi khuẩn.

- Genin **(II)**: nhóm 3-NH_2 rất quan trọng, hoạt tính sẽ bị mất đi nếu có nhóm thế trên nhóm này. Nhóm 1-NH_2 của kanamycin A có thể được acyl hóa (ví dụ amikacin) vẫn có phần lớn hoạt tính. Netilmicin (1-*N*-ethylsisomicin) vẫn giữ được cường độ kháng khuẩn của sisomicin và đề kháng với nhiều enzyme bất hoạt của vi khuẩn.

- Aminosaccharide **(III)**: Thay đổi về cấu trúc trên (III) ít ảnh hưởng đến hoạt tính hơn so với trên **(I)** hoặc/và **(II)**. Do vậy, các thay đổi cấu trúc của AG bán tổng hợp hầu như chỉ thực hiện trên **(I)** hoặc **(II)** của AG tự nhiên.

4. TÍNH CHẤT LÝ HÓA LIÊN QUAN ĐẾN SỬ DỤNG [1]

Các AG có cấu trúc rất phân cực; sự hiện diện của nhiều nhóm amino làm cho AG mang tính base và tồn tại ở dạng polycation ở pH sinh lý. Vì vậy, kháng sinh họ AG tan tốt trong nước nhưng đồng thời hấp thu kém ở đường tiêu hóa và muốn có tác dụng toàn thân các AG phải được sử dụng bằng đường tiêm, đa số dưới dạng muối sulfate. Các chế phẩm đường uống được dùng với mục đích nhằm sát khuẩn đường tiêu hóa hoặc diệt ký sinh trùng đơn bào. Tính tan tốt trong nước của AG đóng góp rõ ràng vào đặc điểm dược động học của những kháng sinh này: phân phối tốt vào các dịch cơ thể nhưng không qua được hàng rào máu não, xương hay mô mỡ. Các AG dường như không bị chuyển hóa *in vivo* và thải trừ chủ yếu qua thận.

Như đã đề cập trong phần kháng sinh họ β-lactam, các AG tương kỵ với các β-lactam và không được trộn lẫn, do tính kiềm của AG có thể phân hủy vòng β-lactam.

5. KIỂM NGHIỆM [3,4]

- Định tính:

+ Amikacin, spectinomycin được định tính bằng phổ hấp thu hồng ngoại (IR); đa số các AG còn lại được định tính bằng sắc ký lớp mỏng so với chất đối chiếu.

+ Các thuốc thử có thể dùng để định tính AG: ninhydrin; 1,3-dihydroxynaphtalene-H_2SO_4 (phát hiện mono-, oligo- và polysaccharide); picric acid (tạo muối picrate với các AG có điểm chảy xác định).

- Kiểm tinh khiết:

+ pH, năng suất quay cực.

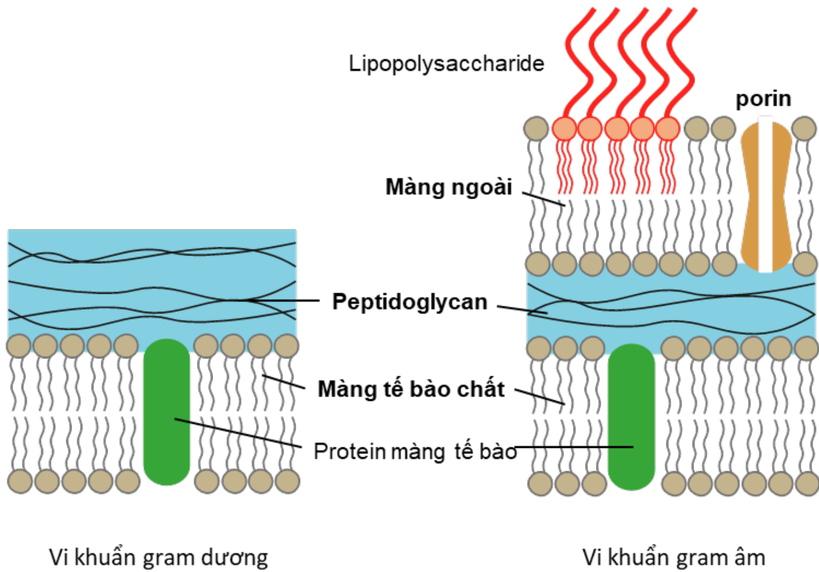
+ Tạp liên quan: thường là những tạp đi kèm trong quá trình ly trích các sản phẩm tự nhiên (ví dụ, tạp neamine trong neomycin; tạp actinamine và 4*S*-dihydrospectinomycin trong spectinomycin; tạp streptomycin B trong streptomycin, hoặc tạp có nguồn gốc là nguyên liệu đối với các AG bán tổng hợp (ví dụ, tạp sisomicin trong netilmicin, tạp kanamycin A trong amikacin), hoặc tạp là AG có cấu trúc rất tương tự với AG kiểm nghiệm (ví dụ: tạp sisomicin trong gentamicin).

- Định lượng: bằng phương pháp vi sinh vật hoặc phương pháp sắc ký lỏng.

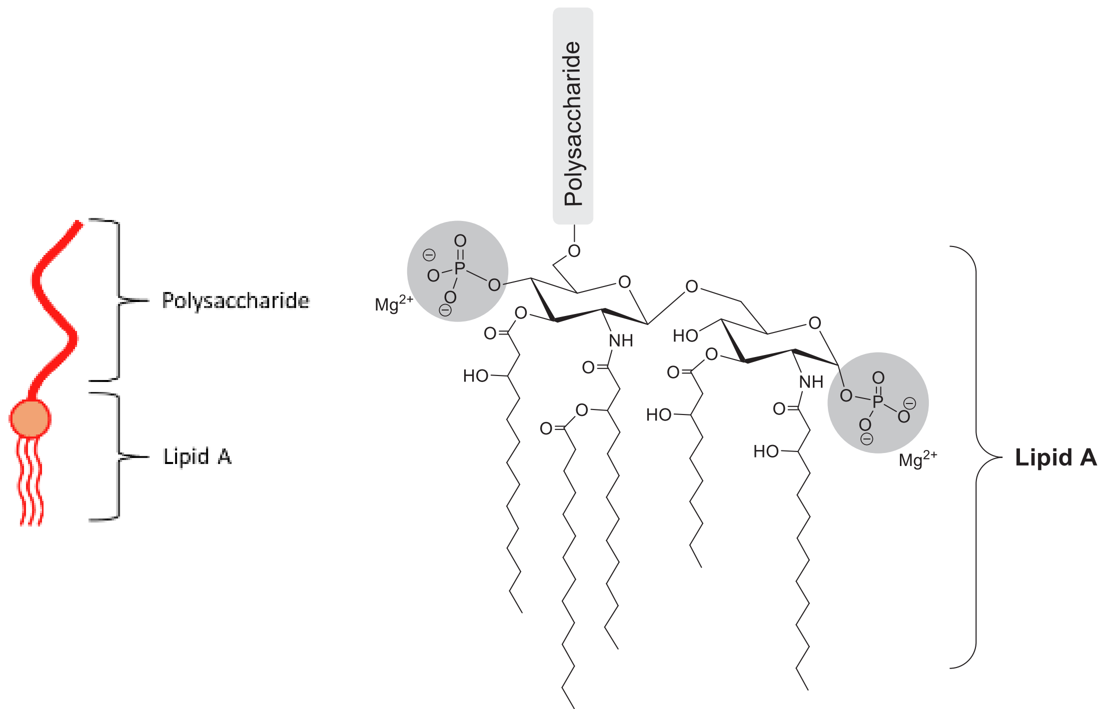
6. CƠ CHẾ KHÁNG KHUẨN - PHỔ KHÁNG KHUẨN

Kháng sinh nhóm AG có đích tác động là rRNA 16S cấu thành tiểu đơn vị ribosome 30S của vi khuẩn, dẫn đến ức chế quá trình sinh tổng hợp protein của vi khuẩn.

Để tiếp cận ribosome nằm trong tế bào chất, các AG phải vượt qua thành tế bào và màng sinh chất của vi khuẩn. Ở vi khuẩn gram âm, các AG vượt qua màng ngoài bằng cách phá vỡ mạng lưới lipopolysaccharide (LPS) (Hình 5.3.3). LPS có phần Lipid A gắn nhóm phosphate tích điện âm và tương tác với các ion dương như Mg^{2+}, Ca^{2+} tạo thành cấu trúc mạng lưới bền chặt làm giảm tính thấm của màng ngoài (Hình 5.3.4). Các kháng sinh chứa nhiều nhóm tích điện dương (polycationic) như AG và polymyxin đẩy các ion dương này ra và phá vỡ cấu trúc của LPS [7].



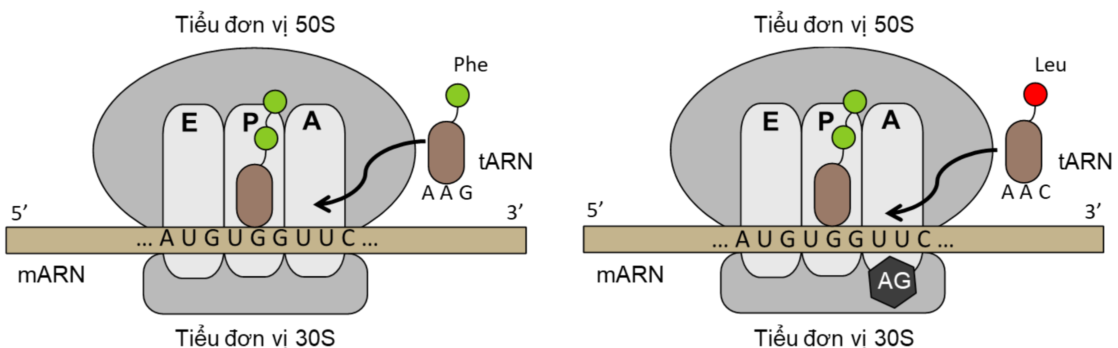
Hình 5.3.3. Cấu tạo thành tế bào vi khuẩn



Hình 5.3.4. Cấu trúc của LPS

Đối với màng sinh chất, sự vận chuyển các AG qua màng có liên quan đến chuỗi chuyền điện tử nằm ở màng sinh chất (hô hấp tế bào của vi khuẩn hiếu khí).

Khi vào được tế bào chất, kháng sinh họ AG gắn với rRNA 16S tại phần A - nơi ribosome liên kết với một aminoacyl tRNA. Sự gắn kết của kháng sinh làm thay đổi cấu trúc không gian của ribosome, làm cho khả năng nhận diện aminoacyl tRNA không còn chính xác (Hình 5.3.5). Hậu quả là protein tạo ra bị lỗi và mất chức năng [8].



Hình 5.3.5. Cơ chế tác dụng của AG. Khi AG gắn lên tiểu đơn vị ribosome 30S ở phần A, ribosome dịch sai mã codon UUC nên tRNA-Leu (thay vì tRNA-Phe) được gắn vào phần A, tạo nên chuỗi polypeptide sai

Aminoglycoside (AG) là nhóm kháng sinh diệt khuẩn, có hoạt tính tốt trên vi khuẩn gram âm (họ *Enterobacteriaceae* như *E. coli, K. pneumonia, Proteus* spp., *Serratia* spp.,...); vi khuẩn gây bệnh dịch hạch (*Yersinia pestis*). Nhóm AG còn có hoạt tính trên *S. aureus,* kể cả MRSA, VRSA, *P. aeruginosa* và yếu hơn trên *Acinetobacter baumannii*.

Nhiều chủng *Mycobacterium* spp. nhạy cảm với nhóm AG như *M. tuberculosis, M. fortuitum, M. chelonae* và *M. avium*.

Các kháng sinh nhóm AG không có tác dụng trên vi khuẩn kỵ khí do các vi khuẩn này không có cơ chế hô hấp tế bào như vi khuẩn hiếu khí [9].

7. CƠ CHẾ ĐỀ KHÁNG AMINOGLYCOSIDE CỦA VI KHUẨN [6]

7.1. Sản xuất enzyme thay đổi cấu trúc thuốc gây mất hoạt tính

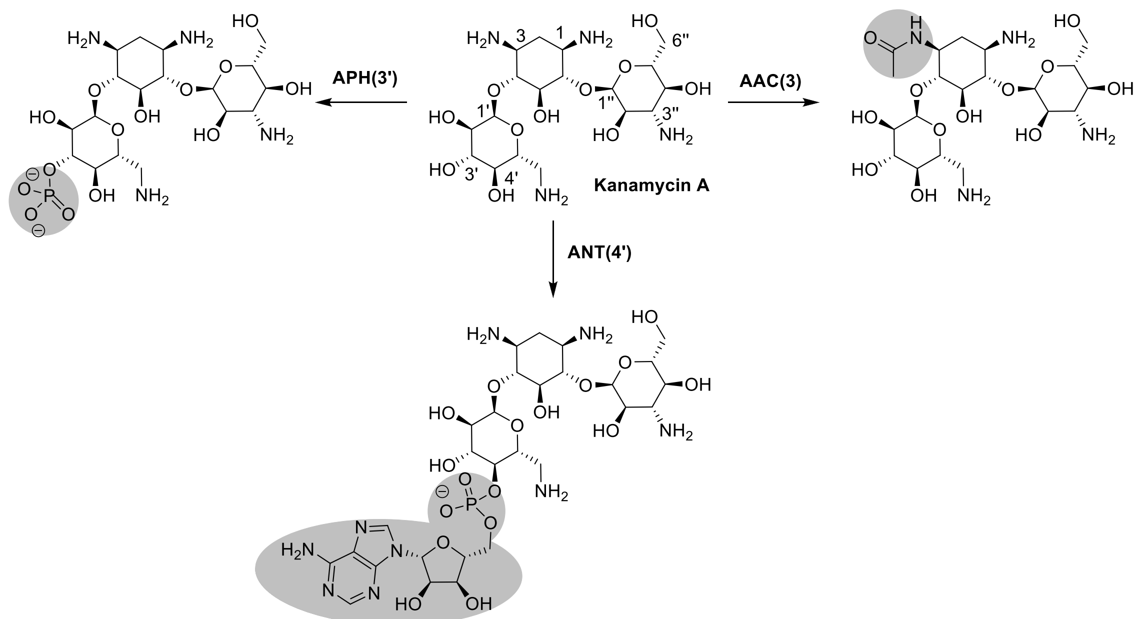
Do cấu trúc của các kháng sinh AG có nhiều nhóm amino và hydroxyl, vi khuẩn có thể sản xuất các enzyme tấn công các nhóm này và làm thay đổi cấu trúc thuốc. Do các nhóm amino và hydroxyl tham gia tạo liên kết hydro nên việc mất đi các nhóm này làm giảm hoặc mất khả năng gắn kết của thuốc lên đích tác động.

Các enzyme bất hoạt các AG được chia làm 3 nhóm: aminoglycoside *N*-acetyltransferase (AAC), aminoglycoside *O*-phosphotransferase (APH) và aminoglycoside *O*-nucleotidyltransferase (ANT) (Hình 5.3.6).

- *Nhóm AAC:* là nhóm lớn nhất, bao gồm các enzyme acetyl hóa nhóm amino trên các vị trí khác nhau của thuốc. Ví dụ: AAC(3) tấn công nhóm amino vị trí số 3; AAC(2′) tấn công nhóm amino vị trí 2′.

- *Nhóm APH:* gắn nhóm phosphate từ một phân tử ATP lên nhóm hydroxyl của thuốc.

- *Nhóm ANT:* gắn nhóm AMP (adenosine monophosphate) từ một phân tử ATP (adenosine triphosphate) lên một nhóm hydroxyl của thuốc.



Hình 5.3.6. Một số enzyme bất hoạt kanamycin A

7.2. Thay đổi cấu trúc ribosome

Sản xuất enzyme như methyltransferase nhằm methyl hóa các base của rRNA 16S ngăn cản các aminoglycoside gắn với đích tác dụng.

Cấu trúc của rRNA 16S cũng có thể bị đột biến nơi tạo liên kết với các kháng sinh AG làm giảm ái lực của thuốc lên đích tác dụng.

7.3. Sản xuất bơm ngược

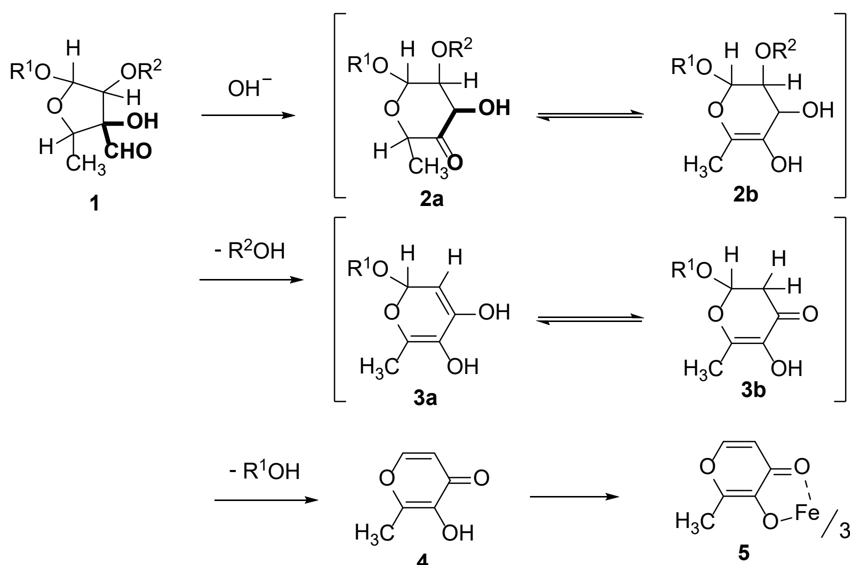
Nhiều vi khuẩn gram âm như *P. aeruginosa* hay *E. coli* đề kháng thuốc có hệ thống bơm ngược (efflux pump) đưa thuốc đã vào được trong tế bào chất trở ra ngoài tế bào, ngăn thuốc đến được với đích tác dụng.

8. CÁC THUỐC TRONG NHÓM [1,4-6]

8.1. Streptomycin

- Như đã đề cập, streptomycin có cấu trúc đặc biệt hơn so với đa số các AG sử dụng trong lâm sàng, với genin là streptidine, có 2 nhóm guanidino tại C1 và C3 thay cho 2 nhóm amine bậc 1 của streptamine. Genin này liên kết với một disaccharide (còn được gọi là streptobiosamine) có được từ kết hợp của L-streptose và *N*-methyl-L-glucosamine. Có lẽ cấu trúc đặc biệt này chịu trách nhiệm phần lớn về phổ kháng khuẩn không bình thường của streptomycin. Streptomycin hoạt động như một "triacidic base" do hai nhóm guanidino có tính base mạnh và nhóm methylamino base yếu hơn.

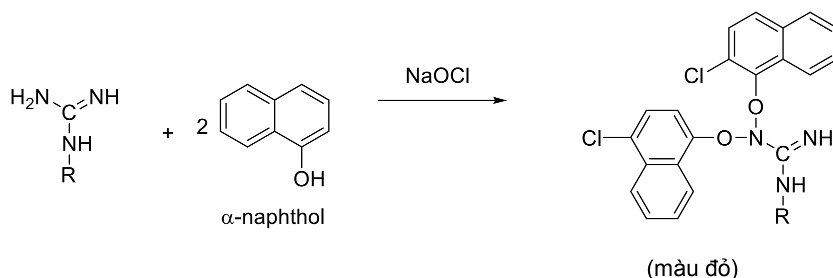
- Khi đun streptomycin **(1)** với dung dịch NaOH, phần cấu trúc α-hydroxyaldehyde sẽ tái sắp xếp để tạo thành α-hydroxyketone; tức sự chuyển vị hydride của nhóm formyl cùng với sự mở rộng vòng. Như vậy streptose (vòng 5) được chuyển thành dạng pyranose (vòng 6) **(2a/2b)**; chất này tiếp tục chuyển thành maltol **(4)** bằng cách tách khỏi phần streptadine (R^2OH) và *N*-methylglucosamine (R^1OH). Acid hóa môi trường, maltol sẽ tạo với muối Fe^{3+} phức chelate **(5)** (λ_{max} = 525 nm) (Hình 5.3.7).



Hình 5.3.7. Phản ứng phát hiện nhóm streptose

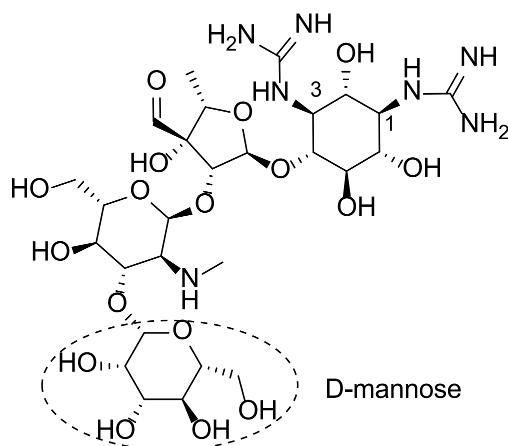
Một đặc điểm khác là nhóm α-hydroxyaldehyde trên vòng streptose làm cho streptomycin không bền, do vậy dung dịch streptomycin sulfate không được tiệt trùng bằng nhiệt (autoclaving) mà phải tiệt trùng qua siêu lọc (ultrafiltration).

- Nhóm guanidine trong streptomycin có thể phát hiện đơn giản bằng cách đun nóng dung dịch streptomycin trong kiềm, khí NH_3 phóng thích, được phát hiện bằng giấy quỳ. Mặt khác, bằng cách xử lý streptomycin với dung dịch α-naphthol và dung dịch natri hypochlorite, chức guanidine sẽ phản ứng tạo thành hợp chất có màu đỏ (phản ứng Sakaguchi).



Hình 5.3.8. Phản ứng Sakaguchi phát hiện nhóm guanidino

- Vi sinh vật sản xuất ra streptomycin *(S. griseus)* cũng tạo ra một số chất khác có cấu trúc liên quan, một trong số đó là streptomycin B (mannisido streptomycin); trong cấu trúc của chất này một phân tử D-mannose tạo thêm 1 liên kết glycoside thông qua nhóm hydroxyl ở C4 của *N*-methyl-L-glucosamine của streptomycin (Hình 5.3.9). Streptomycin B trở thành tạp liên quan cần phải kiểm trong chuyên luận streptomycin sulfate.



Hình 5.3.9. Streptomycin B = Mannisido streptomycin

- Streptomycin sulfate dược dụng phải đạt trước tiên tiêu chuẩn độc tính bất thường, hầu đảm bảo loại được các tạp có thể gây hạ huyết áp nguồn gốc từ quá trình sản xuất.

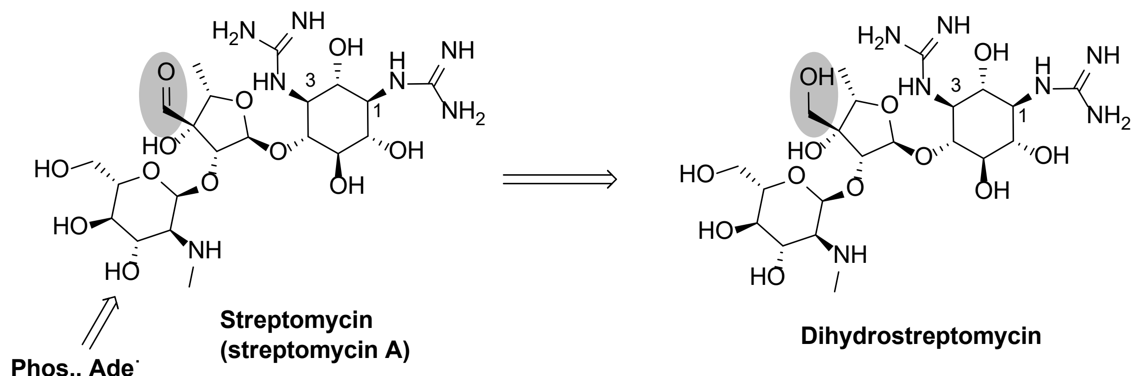
- Ngày nay streptomycin hiếm được sử dụng dưới dạng một tác nhân riêng lẻ. Sự đề kháng streptomycin chủ yếu do quá trình *N*-acetyl hóa, *O*-phosphoryl hóa và *O*-adenyl hóa các nhóm chức đặc hiệu của *N*-methyl glucosamine (Hình 5.3.10).

- Streptomycin có hoạt tính chống lại nhiều vi khuẩn gram âm và gram dương và đặc biệt hiệu quả chống lại trực khuẩn lao *Mycobacterium tuberculosis,* do vậy streptomycin nằm trong danh sách thuốc chống lao hàng đầu và phối hợp với các thuốc khác trong phác đồ điều trị lao. Tuy nhiên do dễ bị đề kháng và nhất là độc tính không thuận nghịch trên tai (có thể gây điếc vĩnh viễn) khi sử dụng trong một thời gian dài, nên ngày nay streptomycin ít được sử dụng.

- Dihydrostreptomycin là AG bán tổng hợp đầu tiên với hy vọng khắc phục được độc tính trên tai của streptomycin, tuy nhiên không may, dẫn chất này còn độc hơn streptomycin do dihydrostreptomycin tác động trực tiếp trên ốc tai nên có thể gây điếc không có triệu chứng báo trước. Vì vậy dihydrostreptomycin chỉ được sử dụng như một kháng sinh có tác dụng tại chỗ, hay được phối hợp trong viên uống với sulfamide kháng khuẩn đường ruột (sulfaguanidin) để trị nhiễm trùng đường ruột.

Về mặt cấu trúc, do vắng mặt chức aldehyde tự do nên dihydrostreptomycin bền trong môi trường kiềm và không xảy ra phản ứng tạo maltol. Một phản ứng thực nghiệm

khác cho phép phân biệt chất này với streptomycin là khi đun nóng dihydrostreptomycin với hydrochloric acid, sau đó thêm dung dịch α-naphthol/kiềm, dihydrostreptomycin cho màu đỏ, trong khi streptomycin cho màu vàng.

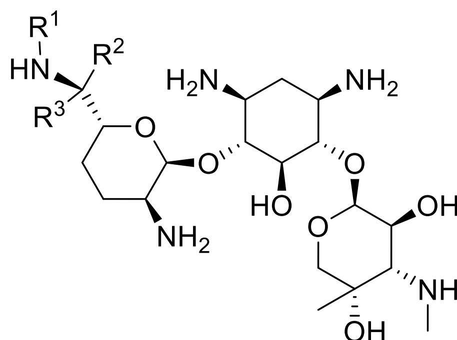


Hình 5.3.10. Cấu trúc của dihydrostreptomycin

Phos. = *O*-phosphoryl hóa; Ade. = *O*-adenyl hóa.

8.2. Gentamicin

Gentamicin là kháng sinh tự nhiên do *Micromonospora purpurea* sản xuất, là hỗn hợp của gentamicin C_1, C_{1a}, và C_2, C_{2a} và C_{2b} (Dược điển Việt Nam quy định gentamicin bao gồm C_1, C_{1a}, C_2, C_{2a}; Dược điển Anh (BP) quy định gentamicin bao gồm C_1, C_{1a}, C_2, C_{2a} và C_{2b}). Các gentamicin có genin là 2-desoxystreptamine gắn với saccharide ở vị trí 4 và 6.

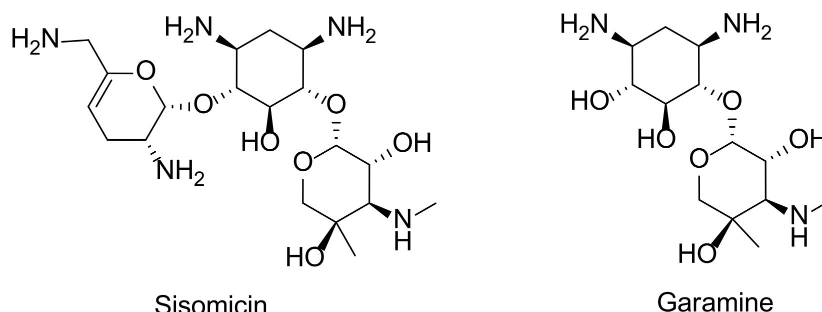


Gentamicin C_1	$R^1 = R^3 = CH_3$ $R^2 = H$
Gentamicin C_{1a}	$R^1 = R^2 = R^3 = H$
Gentamicin C_2	$R^1 = R^2 = H$, $R^3 = CH_3$
Gentamicin C_{2a}	$R^1 = R^3 = H$, $R^2 = CH_3$
Gentamicin C_{2b}	$R^1 = CH_3$ $R^2 = R^3 = H$

Hình 5.3.11. Cấu trúc các gentamicin

Gentamicin là kháng sinh nhóm AG được sử dụng nhiều vì giá thành rẻ và có hoạt tính kháng khuẩn tốt trên nhiều vi khuẩn gram âm kháng thuốc. Hiệu quả trên *P. aeruginosa*. Gentamicin chủ yếu gây độc tính tạm thời trên thận. Dung dịch gentamicin sulfate bền trong một phạm vi pH rộng và có thể tiệt trùng bằng nhiệt.

Tạp liên quan đặc hiệu được quy định kiểm trong BP: sisomicin và garamine (Hình 5.3.12).

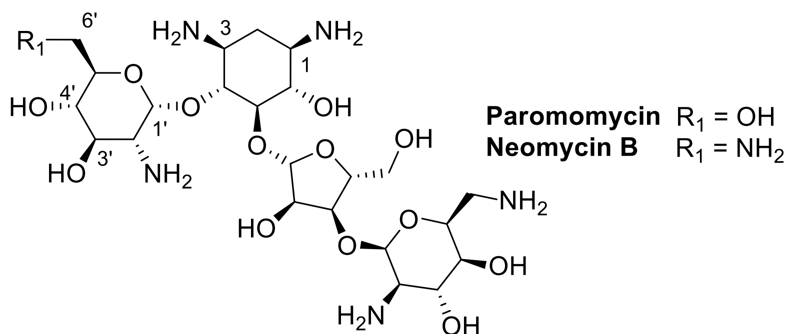


Hình 5.3.12. Tạp liên quan của gentamicin

8.3. Paromomycin và neomycin

Paromomycin được sản xuất bởi *Streptomyces rimosus* var. *paromomycinus*. Phổ kháng khuẩn của paromomycin tương tự như neomycin. Đặc biệt, paromomycin có khả năng gắn kết và ức chế ribosome của tế bào nhân thật, vì vậy được sử dụng để điều trị bệnh nhiễm ký sinh trùng gây ra bởi các động vật nguyên sinh *(Entamoeba, Giardia, Leishmania,...),* chỉ sử dụng bằng đường uống [10].

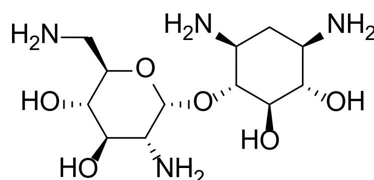
Neomycin sản xuất bởi *Streptomyces fradiae* là hỗn hợp của neomycin A, B và C. Neomycin B là hợp chất chiếm đa số, chỉ khác paromomycin ở vị trí 6′ (nhóm NH_2 thay vì nhóm OH) nhưng lại có tác dụng kém trên các động vật nguyên sinh. Cấu trúc của phức hợp paromomycin với ribosome của *Leishmania* cho thấy nhóm OH ở vị trí 6′ có vai trò quan trọng trong tương tác với base G2065 của rRNA.



Hình 5.3.13. Paromomycin và neomycin B

Do độc tính cao, neomycin không sử dụng đường tiêm mà thường có trong các chế phẩm dùng ngoài nhưng có thể gây dị ứng tiếp xúc [11].

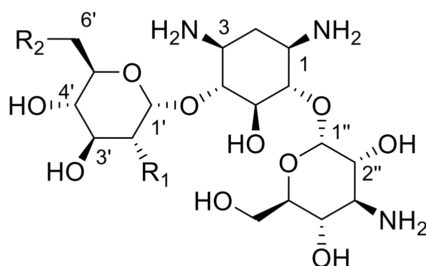
Tạp liên quan của neomycin B là neamine (neomycin A) (Hình 5.3.14).



Hình 5.3.14. Neamine

7.4. Kanamycin và amikacin

Kanamycin là kháng sinh tự nhiên ly trích từ *Streptomyces kanamyceticus,* gồm kanamycin A, kanamycin B, kanamycin C (Hình 5.3.15).



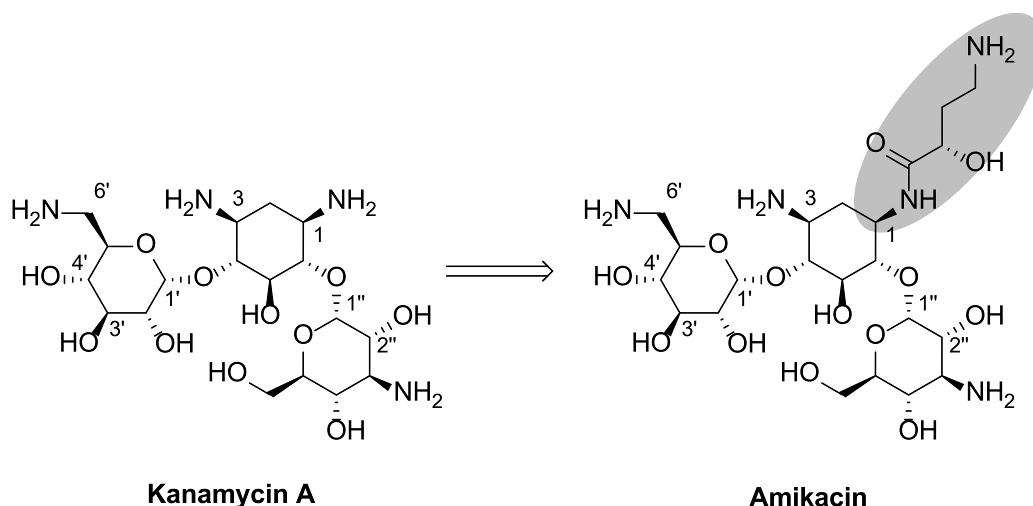
Kanamycin A R_1 = OH, R_2 = NH_2
Kanamycin B R_1 = R_2 = NH_2
Kanamycin C R_1 = NH_2, R_2 = OH

Hình 5.3.15. Cấu trúc của các kanamycin

Dung dịch kanamycin sulfate bền với nhiệt và bền trong khoảng pH = 2-11.

Kanamycin là một trong các AG có độc tính cao nhất nên ngày nay ít được sử dụng, thay vào đó là các dẫn xuất bán tổng hợp.

Amikacin là dẫn xuất acyl hóa của kanamycin A, tại vi trí 1 nhóm amine bậc 1 được thay bằng nhóm (*S*)-4-amino-2-hydroxybutyryl amide. Tuy cách xa vị trí bị tấn công bởi enzyme gây đề kháng, nhóm thế này có khả năng ức chế sự adenyl hóa và phosphoryl hóa ở vòng **(I)** tại C2′ và C3′ do làm giảm sự gắn kết của amikacin với enzyme của vi khuẩn. Sự thay đổi cấu trúc này đã làm cho hiệu lực và phổ kháng khuẩn của amikacin gia tăng mạnh, và amikacin được dùng để điều trị nhiễm trùng các chủng nhạy cảm như *M. tuberculosis, Yersinia tularensis* và *P. aeruginosa* đề kháng các kháng sinh khác.

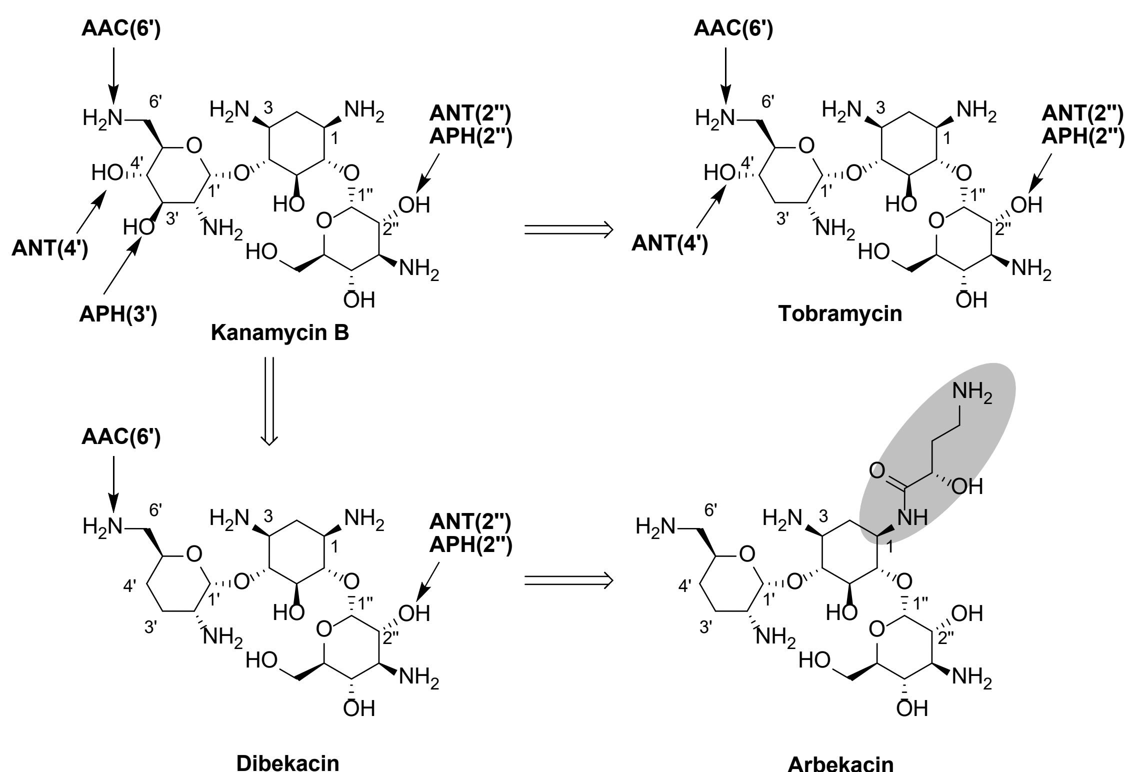


Hình 5.3.16. Kanamycin A và amikacin

8.5. Tobramycin, dibekacin và arbekacin

Tobramycin là sản phẩm có nguồn gốc tự nhiên (ly trích từ *Streptomyces tenebrarius*) hoặc bán tổng hợp từ kanamycin B. Tobramycin (3′-deoxykanamycin B) và dibekacin (3′,4′-dideoxykanamycin B) là dẫn xuất của kanamycin B được thiết kế bỏ bớt nhóm hydroxy ở vị trí 3′ (tobramycin) và 3′+4′ (dibekacin) nhằm chống lại các enzyme bất hoạt kanamycin B ở các vị trí này như APH(3′) và ANT(4′). Tuy nhiên tobramycin và dibekacin vẫn còn các vị trí nhạy cảm khác chịu sự tấn công của enzyme như vị trí 2″ và 6′.

Arbekacin là dẫn xuất của dibekacin, có nhóm (*S*)-4-amino-2-hydroxybutyryl amide ở vị trí 1 bảo vệ arbekacin trước sự tấn công của enzyme ở vị trí 2″ và làm cho thuốc chỉ có ái lực yếu với AAC(6′) [12].



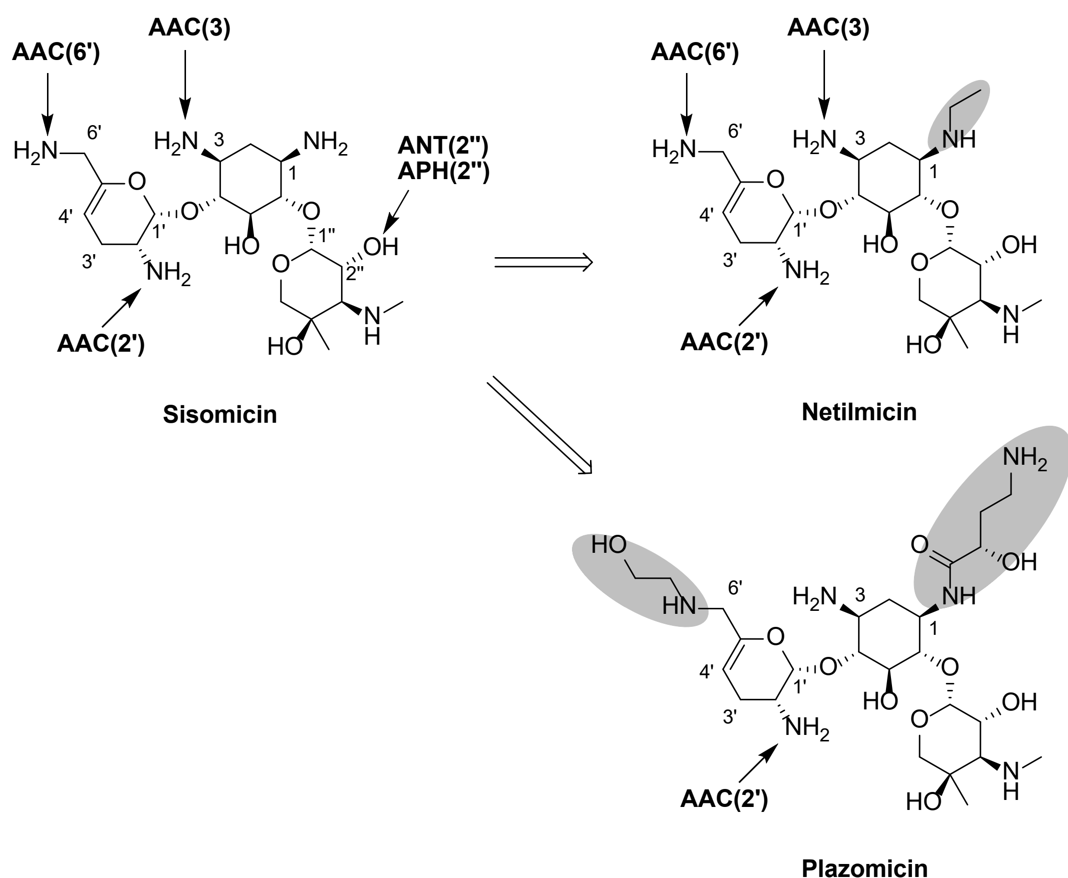
Hình 5.3.17. Các dẫn xuất của kanamycin B

8.6. Netilmicin và plazomicin

- Netilmicin: 1-*N*-ethylsisomicin, dẫn chất bán tổng hợp từ sisomicin.

Hiệu lực của netilmicin chống lại một số vi khuẩn đề kháng gentamicin (kể cả *Pseudomonas aeruginosa*) được cho là do kháng sinh này có khả năng chống lại sự bất hoạt bởi các enzyme vi khuẩn adenyl hóa hoặc phosphoryl hóa gentamicin và sisomicin. Rõ ràng là sự thêm vào nhóm 1-ethyl trong sisomicin làm giảm rõ rệt ái lực của các enzyme này đối với phân tử theo cách tương tự như được quan sát trong 1-*N*-amino-α-hydroxybutyryl amide của kanamycin A (amikacin). Tuy nhiên, netilmicin bị bất hoạt bởi hầu hết các enzyme của vi khuẩn tạo ra acetyl aminoglycoside, trong khi amikacin kháng hầu hết các enzyme này.

- Plazomicin, thuốc mới nhất trong nhóm (2018), là dẫn xuất bán tổng hợp từ sisomicin, có sự thay đổi cấu trúc nhằm chống lại sự tấn công của các enzyme.



Hình 5.3.18. Sisomicin và các dẫn chất bán tổng hợp

Tương tự như arbekacin, sisomicin và plazomicin không có nhóm OH ở vị trí 3′ và 4′, nên không bị bất hoạt bởi các enzyme APH(3′) và ANT(4′).

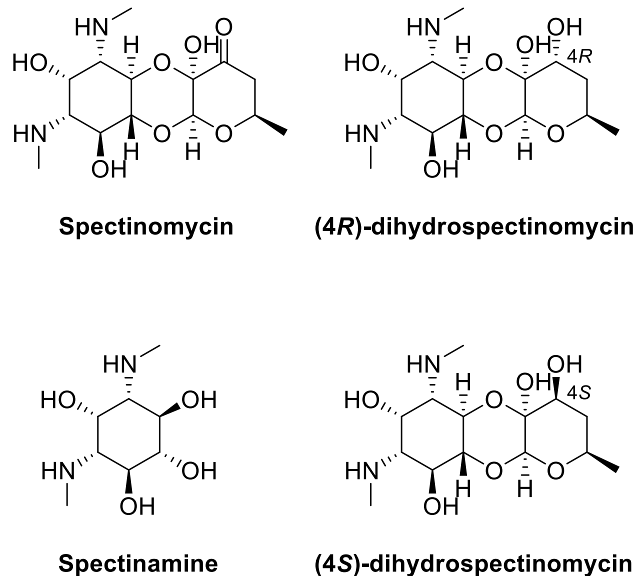
Nhóm (*S*)-4-amino-2-hydroxybutyryl amide bảo vệ plazomicin trước sự tấn công của enzyme AAC(3), ANT(2″) và APH(2″). Nhóm hydroxyethyl chống lại các enzyme AAC(6′) [13].

Plazomicin hiệu quả trên *Enterobacteriaceae* đa đề kháng, kể cả *Enterobacteriaceae* đề kháng carbapenem.

8.7. Spectinomycin

Spectinomycin là một kháng sinh kìm khuẩn sản xuất bởi *Streptomyces spectabilis*. Khác với các kháng sinh AG khác, spectinomycin có nhân spectinamine tạo cấu trúc vòng ngưng tụ. Spectinomycin là một kháng sinh kìm khuẩn, sử dụng trong lâm sàng là hỗn hợp spectinomycin (chủ yếu) và (4*R*)-dihydrospectinomycin (tối đa 9%), dưới dạng muối dihydrochloride.

Tạp liên quan đặc hiệu: actinamine (spectinamine) và (4*S*)-dihydrospectinomycin (Hình 5.3.19).



Hình 5.3.19. Spectinomycin, (4*R*)-dihydrospectinomycin và tạp liên quan

Spectinomycin được dùng một liều tiêm bắp duy nhất (2 g) để điều trị bệnh lậu do *Neisseria gonorrhoeae,* ở những người dị ứng với penicilin hoặc ở người bệnh do *N. gonorrhoeae* kháng penicillin gây ra.

9. ỨNG DỤNG TRONG TRỊ LIỆU [9]

Nhóm AG được sử dụng trong điều trị theo kinh nghiệm các trường hợp nhiễm trùng nặng như nhiễm trùng huyết, viêm màng trong tim, nhiễm trùng ổ bụng, nhiễm trùng đường tiết niệu và các bệnh nhiễm trùng bệnh viện ở bệnh nhân có nguy cơ tử vong cao và nghi ngờ do các vi khuẩn đa kháng thuốc gây ra. Các AG có tác dụng hiệp đồng với kháng sinh họ β-lactam nên thường được sử dụng phối hợp nhằm mở rộng phổ kháng khuẩn và giảm nguy cơ đề kháng kháng sinh.

Các AG nằm trong các phối hợp thuốc điều trị bệnh lao đa kháng thuốc và một vài nhiễm trùng do *Mycobacterium* không phải lao gây ra.

AG dùng đường uống dùng để sát khuẩn đường tiêu hóa.

Tobramycin dạng hít được sử dụng cho bệnh nhân xơ nang (cystic fibrosis) bị nhiễm trùng phổi mạn tính gây ra bởi *P. aeruginosa*.

Paromomycin được sử dụng đề điều trị bệnh nhiễm ký sinh trùng như *Trichomonas, Entamoeba, Giardia, Leishmania, Cryptosporidium,...* khi các thuốc khác bị chống chỉ định.

10. TÁC DỤNG PHỤ - ĐỘC TÍNH [9,14]

10.1. Độc tính trên tai trong

Kháng sinh nhóm AG gây độc tính trên cơ quan tiền đình và ốc tai của tai trong. Streptomycin, gentamicin có độc tính trên cơ quan tiền đình nhiều hơn; dihydrostreptomycin, neomycin, kanamycin và amikacin chủ yếu gây độc trên ốc tai; tobramycin có độc tính trên cả tiền đình và ốc tai.

Cần lưu ý AG có thể gây độc tính không thuận nghịch (có thể gây điếc vĩnh viễn), và các triệu chứng thường xuất hiện vài ngày đến vài tuần sau khi sử dụng kháng sinh nên khó phát hiện kịp thời. Độc tính xuất hiện trên cả hai tai và phụ thuộc vào liều kháng sinh sử dụng.

Triệu chứng độc trên ốc tai là giảm thính lực, ù tai; còn đối với cơ quan tiền đình là mất thăng bằng và chóng mặt. Giảm thính lực thường ảnh hưởng trước tiên đến các nốt cao và sau đó lan dần đến các nốt trầm.

10.2. Độc tính trên thận

Các AG tích tụ ở tế bào niêm mạc ống lượn gần và gây độc tính ở đây. Neomycin tích tụ nhiều nhất và gây độc trên thận nhiều nhất nên không được sử dụng đường tiêm. Độc tính trên thận thường nhẹ và tạm thời (vì tế bào ống lượn gần có thể tự tái tạo).

Câu hỏi tự lượng giá

1. Từ cấu trúc của kanamycin B, chỉ ra các vị trí tấn công của enzyme đề kháng thuốc, từ đó đề nghị các thay đổi về cấu trúc nhằm chống lại tác dụng của các enzyme này?
2. Dựa vào cấu trúc, đề nghị phương pháp hiện hình sản phẩm trên bản mỏng sắc ký khi kiểm nghiệm các thuốc nhóm aminoglycoside bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng.
3. Giải thích (hoặc trả lời) liên quan đến cấu trúc:
    - Tại sao dung dịch gentamicin sulfate có thể tiệt trùng bằng nhiệt?
    - Gentamicin có cho cực đại hấp thu trong vùng UV-vis?
    - Trong 2 kháng sinh gentamicin và neomycin, kháng sinh nào sau khi đun cách thủy với H_2SO_4 40% tạo ra được furfural (có hấp thu UV tại 240 nm)?

Danh mục từ viết tắt

AAC: aminoglycoside *N*-acetyltransferase

AG: aminoglycoside

ANT: aminoglycoside *O*-nucleotidyltransferase

APH: aminoglycoside *O*-phosphotransferase

LPS: lipopolysaccharide

MRSA: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

VRSA: Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*

Tài liệu tham khảo

1. Gentry EJ. Antibiotics and Antimicrobial Agents. In: Lemke TL, Williams DA, Roche VF, Zito SW, editors. Foye's Principles of Medicinal Chemistry. 7th ed. United States: Lippincott Williams & Wilkins; 2013. pp.1106-1110.
2. Beale JM. Antibacterial Antibiotics, In: Beale JH, Blook JM, editors. Wilson and Griswold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry. 12th ed. United States. Lippincott Williams & Wilkins, 2011. pp.294-301.
3. Dược điển Việt Nam 5. Nhà xuất bản Y học; 2018.
4. Dược điển Anh (2018).
5. Arya DP. Aminoglycoside antibiotics: From chemical biology to drug discovery. 2nd edition. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc;2007.
6. Krause KM, Serio AW, Kane TR, Connolly LE. Aminoglycosides: An Overview. Cold Spring Harb Perspect Med. 2016 Jun;6(6):a027029.
7. Hancock RE, Farmer SW, Li ZS, Poole K. Interaction of aminoglycosides with the outer membranes and purified lipopolysaccharide and OmpF porin of Escherichia coli. Antimicrob Agents Chemother. 1991 Jul; 35(7):1309-1314.
8. Demirci H, Murphy F, Murphy E, Gregory ST, Dahlberg AE, Jogl G. A structural basis for streptomycin-induced misreading of the genetic code. Nat Commun. 2013 Jan; 4(1355).
9. MacDougall C. Aminoglycosides. In: Brunton LL, Hilal-Dandan R, Knollmann BC, editors. Goodman&Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. 13th ed. United States: McGraw-Hill Education; 2018. pp.1039-1047.

10. Shalev-Benami M, Zhang Y, Rozenberg H, Nobe Y, Taoka M, Matzov D, et al. Atomic resolution snapshot of *Leishmania* ribosome inhibition by the aminoglycoside paromomycin. Nat Commun. 2017 Nov; 8(1589).
11. Zug KA, Warshaw EM, Fowler JF Jr, Maibach HI, Belsito DL, Pratt MD, et al. Patch-test results of the North American Contact Dermatitis Group 2005-2006. Dermatitis. 2009 May-Jun; 20(3):149-160.
12. Matsumoto T. Arbekacin: another novel agent for treating infections due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and multidrug-resistant Gram-negative pathogens. Clin Pharmacol. 2014 Sep; 6:139-148.
13. Aggen JB, Armstrong ES, Goldblum AA, Dozzo P, Linsell MS, Gliedt MJ, et al. Synthesis and spectrum of the neoglycoside ACHN-490. Antimicrob Agents Chemother. 2010 Nov; 54(11):4636-4642.
14. Huth ME, Ricci AJ, Cheng AG. Mechanisms of aminoglycoside ototoxicity and targets of hair cell protection. Int J Otolaryngol. 2011 Oct; 2011:937861.

5.4. KHÁNG SINH NHÓM PHENICOL

Các hoạt chất được đề cập

Chloramphenicol

Thiamphenicol

Florfenicol

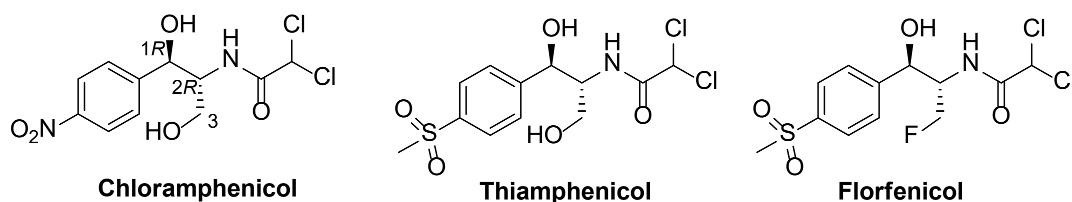
1. GIỚI THIỆU

Chloramphenicol là một kháng sinh có nguồn gốc tự nhiên, từ vi khuẩn *Streptomyces venezuelae,* được sử dụng từ năm 1948. Sau đó, do cấu trúc đơn giản, chloramphenicol được sản xuất bằng con đường tổng hợp hóa học.

Trước đây, chloramphenicol và các dẫn xuất được sử dụng rộng rãi nhưng do tình trạng đề kháng kháng sinh ngày càng nhiều và độc tính cao, nhóm kháng sinh này chỉ còn được sử dụng điều trị một số bệnh nhiễm trùng nguy hiểm [1].

2. ĐẶC ĐIỂM CẤU TRÚC

Chloramphenicol có khung carbon chính 1,3-propanediol, trên đó có gắn nhóm *p*-nitrophenyl ở C1 và nhóm *N*-dichloroacetyl ở C2. Do có 2 carbon bất đối (C1 và C2), chloramphenicol có 4 đồng phân quang học. Tuy nhiên chỉ có một đồng phân (1*R*,2*R*) là có hoạt tính kháng khuẩn [2].



Hình 5.4.1. Các kháng sinh nhóm phenicol

Độc tính của chloramphenicol như thiếu máu bất sản (aplastic anemia) một phần là do nhóm nitro gắn trên nhân thơm. Trong cơ thể, nhóm nitro bị khử thành nitroso và hydroxylamine gây hại cho DNA. Trong cấu trúc của thiamphenicol, nhóm nitro được thay bằng nhóm methylsulfonyl, chất này không gây thiếu máu bất sản, nhưng giảm hoạt tính kháng khuẩn so với chloramphenicol.

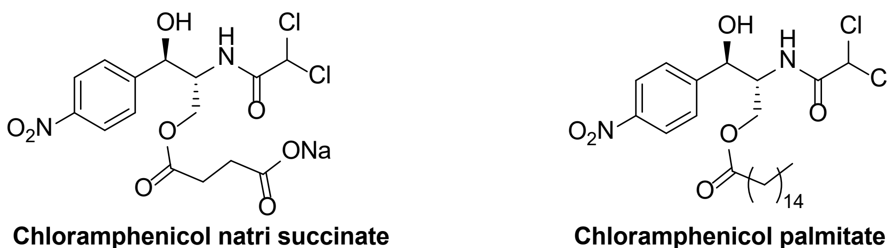
Florfenicol là một dẫn xuất của thiamphenicol, có nhóm -OH ở C3 được thay bằng -F. Sự thay thế này làm tăng hoạt tính kháng khuẩn và làm florfenicol có hoạt tính tương đương với chloramphenicol. Do mất một nhóm -OH, florfenicol có tác dụng trên một số chủng vi khuẩn đề kháng với chloramphenicol và thiamphenicol bằng cách sản xuất acetyltransferase. Florfenicol và thiamphenicol chủ yếu được dùng trong thú y [3].

3. TÍNH CHẤT LÝ HÓA, BÀO CHẾ, KIỂM NGHIỆM

Chloramphenicol có nhiều dạng bào chế như thuốc nhỏ tai - mắt, kem bôi da, viên nén, viên nang, bột pha tiêm.

Tiền dược chloramphenicol natri succinate tan tốt trong nước nên có trong dạng bào chế bột pha tiêm.

Tiền dược chloramphenicol palmitate được sử dụng làm nhũ dịch uống. Do chloramphenicol có vị đắng, nhưng khi tạo ester với palmitic acid trở nên thân dầu và không tan trong nước, làm mất vị đắng. Chloramphenicol palmitate được lipase của tuyến tụy thủy phân trong ruột, giải phóng chloramphenicol dạng tự do [4].



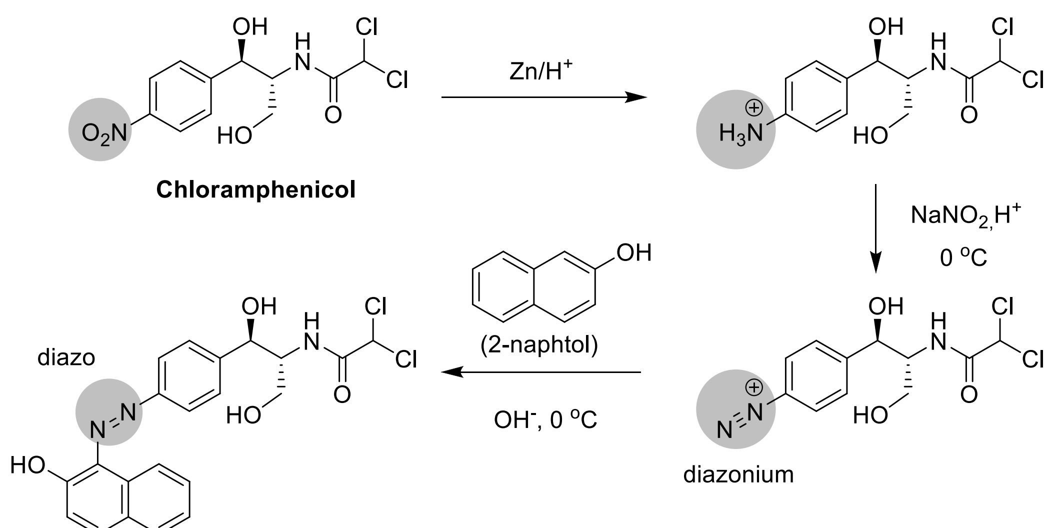
Hình 5.4.2. Các tiền dược của chloramphenicol

- Định tính

+ Sắc ký lớp mỏng, phổ IR, điểm chảy, góc quay cực riêng.

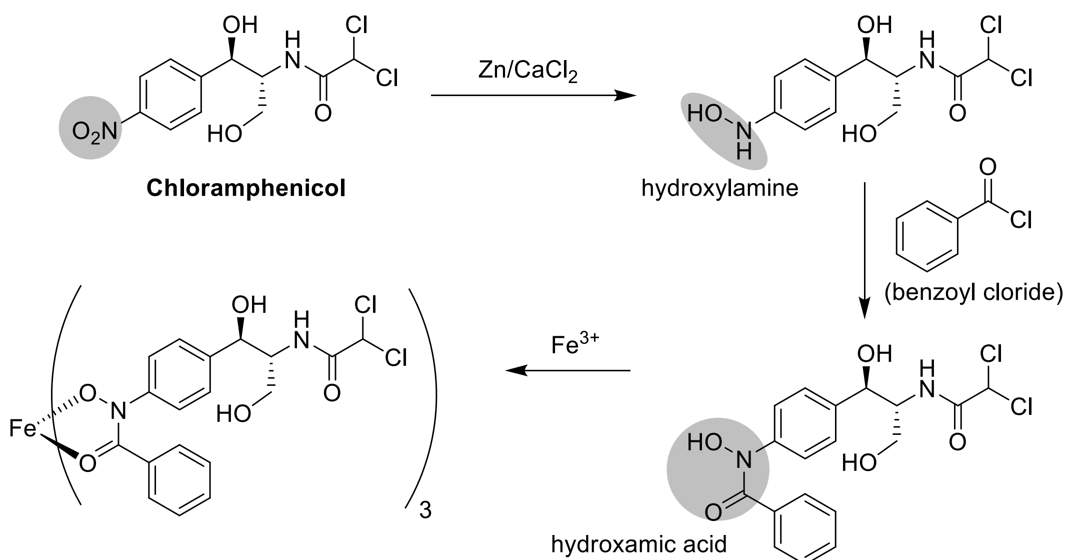
+ Phản ứng của nhóm nitrophenyl:

- Trong môi trường acid loãng (H_2SO_4 1M), nhóm nitro bị khử bởi bột kẽm tạo ammonium ($-NH_3^+$). Khi thêm natri nitrite ($NaNO_2$) (ở 0 ^oC) tạo muối diazonium ($-N_2^+$). Muối diazonium phản ứng với 2-naphthol trong môi trường kiềm (NaOH) tạo phẩm diazo có màu đỏ.



Hình 5.4.3. Phản ứng khử hóa, diazo hóa, azoic hóa định tính chloramphenicol

- Khi đun nóng dung dịch chloramphenicol với bột kẽm và $CaCl_2$, nhóm nitro bị khử thành hydroxylamine. Nhóm này phản ứng với benzoyl chloride tạo sản phẩm hydroxamic acid có khả năng tạo phức tan trong nước có màu đỏ tím nhạt đến đỏ tía với ion Fe^{3+}.



Hình 5.4.4. Phản ứng khử hóa, benzoyl hóa, tạo phức màu định tính chloramphenicol

+ Phản ứng của ion Cl^-: Đốt chế phẩm trong chén sứ với Na_2CO_3 khan trên ngọn lửa trong 10 phút, để nguội. Hòa tan cắn bằng dung dịch HNO_3 và lọc. Dịch lọc này cho phản ứng của ion chloride.

- Kiểm tinh khiết

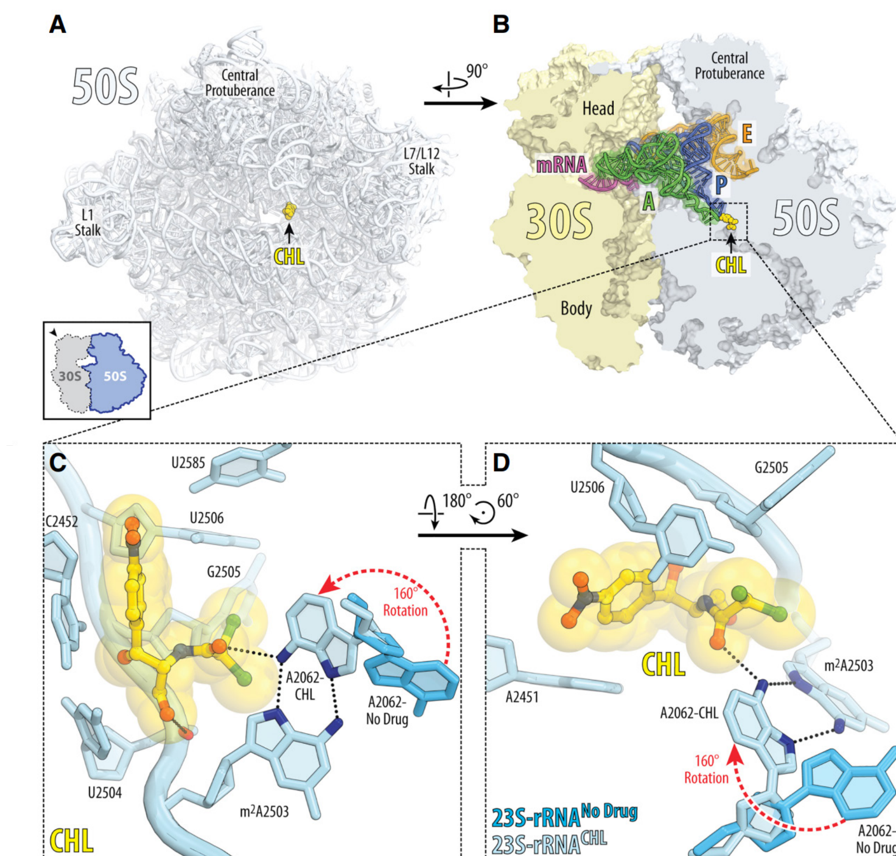
+ Xác định hàm lượng tạp chất 2-amino-l-(4-nitrophenyl)propane-l,3-diol bằng phương pháp sắc ký lỏng.

- Định lượng

Phương pháp quang phổ hấp thu tử ngoại tại bước sóng 278 nm. Các dạng bào chế có chứa hoạt chất khác ngoài chloramphenicol được định lượng bằng phương pháp sắc ký lỏng [5].

4. CƠ CHẾ KHÁNG KHUẨN - PHỔ KHÁNG KHUẨN

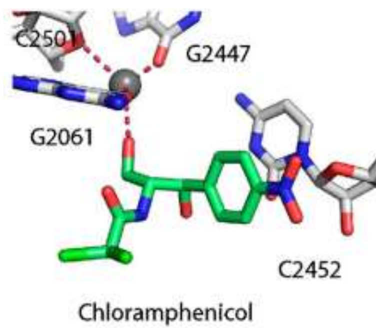
Chloramphenicol là một trong các kháng sinh có đích tác động là tiểu đơn vị ribosome 50S của vi khuẩn (r50S). Trên r50S, nằm giữa vùng A và P là trung tâm xúc tác (peptidyl transferase center) - nơi tạo liên kết peptide giữa chuỗi peptide đang hình thành và amino acid đang gắn trên tRNA. Chloramphenicol cạnh tranh với aminoacyl-tRNA gắn ở vùng A của trung tâm xúc tác và ức chế hình thành liên kết peptide mới.



Hình 5.4.5. Cấu trúc tinh thể đồng kết tinh giữa ribosome của *Thermus thermophilus* và chloramphenicol (màu vàng) [6]

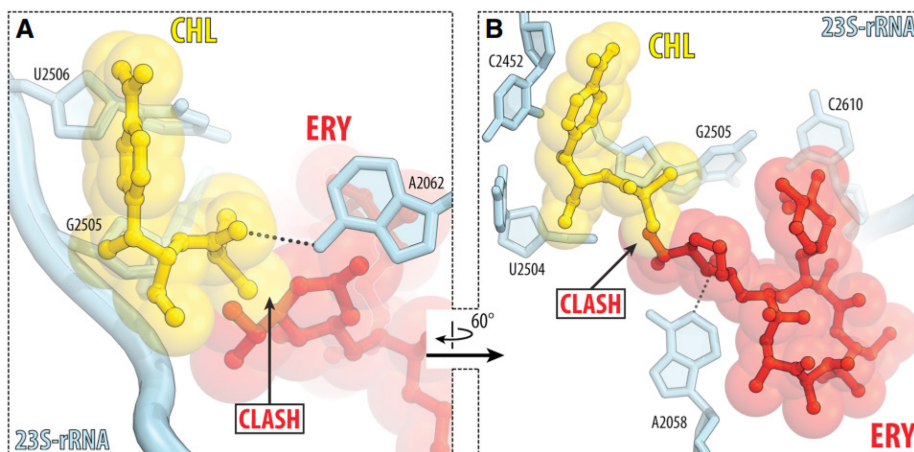
Cấu trúc tinh thể đồng kết tinh giữa ribosome của vi khuẩn và chloramphenicol cho thấy oxygen của nhóm carbonyl tạo liên kết hydro với base thuộc nucleotide A2062 của rRNA 23S (tham gia cấu tạo r50S). Tương tác này làm cho base của A2062 quay 160° và tạo được liên kết với base của nucleotide m^2A2503, làm bền phức hợp (Hình 5.4.5) [6].

Vòng nitrophenyl của chloramphenicol tạo liên kết π-stacking với base của nucleotide C2452. Ngoài ra, nhóm oxygen của nhóm methylene hydroxyl, cùng với các base của rRNA, tham gia tạo phức với một ion K^+ (Hình 5.4.6) [7].



Hình 5.4.6. Cấu trúc tinh thể đồng kết tinh giữa ribosome của *Thermus thermophilus* và chloramphenicol (màu xanh lá) cho thấy phức hợp với ion K^+ (màu xám) [7]

So sánh cấu trúc tinh thể giữa r50S-chloramphenicol và r50S-erythromycin giúp giải thích sự tương kỵ giữa hai kháng sinh. Nhóm dichloroacetyl của chloramphenicol và nhóm dimethylamine của erythromycin nằm cùng vị trí khi gắn với r50S (Hình 5.4.7) [6]



Hình 5.4.7. Sự trùng lặp về vị trí gắn của nhóm dichloroacetyl (của chloramphenicol) và nhóm dimethylamine (của erythromycin) trên r50S [6]

Kháng sinh nhóm phenicol là kháng sinh kìm khuẩn, phổ rộng. Ở liều cao, chloramphenicol có khả năng diệt khuẩn đối với *Streptococcus pneumoniae, Neisseria*

meningitidis và *Haemophilus influenzae*. Các chủng nhạy cảm với thuốc là *Staphylococcus aureus,* enterococci (như *E. faecium*), mycoplasma, chlamydia, rickettsia.

Pseudomonas aeruginosa, Shigella, Salmonella đề kháng với chloramphenicol [1].

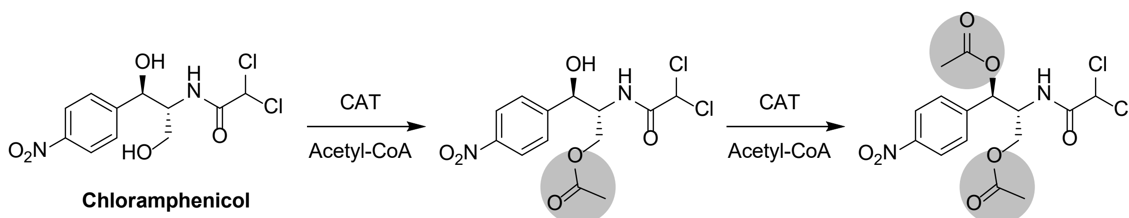
5. CƠ CHẾ ĐỀ KHÁNG CỦA VI KHUẨN [2,3]

Đột biến thay đổi cấu trúc đích tác dụng

Nhiều đột biến trên chuỗi rRNA 23S cũng như trên chuỗi protein của r50S đã được tìm ra ở các chủng vi khuẩn đề kháng với các phenicol. Các đột biến này đều có hậu quả làm giảm ái lực của thuốc lên r50S.

Sản xuất enzyme bất hoạt thuốc

Vi khuẩn có thể đề kháng với chloramphenicol bằng cách sản xuất enzyme thay đổi cấu trúc thuốc, làm thuốc mất khả năng gắn lên ribosome. Nhóm enzyme thường gặp nhất là acetyltransferase (CAT), có chức năng gắn nhóm acetyl lên các nhóm -OH của chloramphenicol (Hình 5.4.8).



Hình 5.4.8. Sự acetyl hóa các nhóm OH của chloramphenicol bởi enzyme vi khuẩn

Sản xuất bơm ngược (efflux pumps)

Vi khuẩn có thể sản xuất các loại protein vận chuyển (transporter) hay còn gọi là bơm ngược (efflux pump) đẩy thuốc ra ngoài tế bào. Các loại transporter này có thể đặc hiệu (có cơ chất giới hạn các thuốc có cấu trúc gần giống nhau) hay đa năng (multidrug transporter, có cơ chất bao gồm nhiều cấu trúc khác nhau).

6. ỨNG DỤNG TRONG TRỊ LIỆU [1]

Do độc tính cao và tình trạng đề kháng phổ biến với chloramphenicol, thuốc chỉ được sử dụng hạn chế trong một số trường hợp nhiễm trùng nặng gây ra bởi các vi khuẩn còn nhạy cảm với thuốc:

Sốt thương hàn

Do vi khuẩn *Salmonella typhi* có tỷ lệ đề kháng cao với chloramphenicol nên hiện nay, cephalosporin thế hệ 3 và quinolone được ưu tiên sử dụng.

Viêm màng não do vi khuẩn

Chloramphenicol có thể được sử dụng để điều trị viêm màng não gây ra do *H. influenzae, N. meningitidis,* và *S. pneumoniae* ở bệnh nhân dị ứng nặng với β-lactam.

Bệnh do rickettsia

Nhóm tetracycline thường được sử dụng điều trị nhiễm rickettsia. Một số trường hợp như dị ứng với tetracycline, có thể thay thế bằng chloramphenicol.

7. TÁC DỤNG PHỤ - ĐỘC TÍNH [1]

Phản ứng quá mẫn

Phát ban, sốt, phù mạch.

Tai biến loại Herxheimer: khi sử dụng chloramphenicol điều trị giang mai, brucellosis, sốt thương hàn.

Độc tính trên hệ tạo máu

Độc tính nghiêm trọng nhất của chloramphenicol là trên hệ tạo máu, được chia làm 2 loại:

- Ức chế tủy xương phụ thuộc vào liều dẫn đến thiếu máu, giảm bạch cầu, giảm tiểu cầu. Độc tính này thường xuất hiện khi sử dụng chloramphenicol với liều cao (nồng độ trong máu trên 25 μg/mL) và/hoặc kéo dài. Tình trạng này có thể phục hồi khi ngưng sử dụng thuốc.

- Thiếu máu bất sản tuy hiếm gặp (< 1/30000) nhưng không thể dự báo trước và không hồi phục, gây nguy hiểm tính mạng.

Cơ chế gây độc có thể một phần do khả năng ức chế sản xuất protein của ty thể ở người (do ribosome của ty thể giống với ribosome của vi khuẩn). Các tế bào cần nhiều năng lượng (do ty thể sản xuất) như tế bào tạo máu sẽ bị ảnh hưởng nhiều nhất.

Câu hỏi tự lượng giá

Chỉ ra vị trí tấn công của enzyme đề kháng lên cấu trúc chloramphenicol. Nhóm chức này có vai trò như thế nào đối với hoạt tính thuốc? Nhằm chống lại enzyme đề kháng, florfenicol có sự thay đổi như thế nào về cấu trúc?

Danh mục từ viết tắt

CAT: chloramphenicol acetyltransferase

r50S: tiểu đơn vị ribosome 50S

Tài liệu tham khảo

1. Goodman Gilman MacDougall C. Protein synthesis inhibitors and miscellaneous antibacterial agents. In: Brunton LL, Hilal-Dandan R, Knollmann BC, editors. Goodman&Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. 13th ed. United States: McGraw-Hill Education; 2018. pp.1052-1053.

2. Schwarz S, Kehrenberg C, Doublet B, Cloeckaert A. Molecular basis of bacterial resistance to chloramphenicol and florfenicol. FEMS Microbiol Rev. 2004 Nov; 28(5):519-542.

3. Dinos GP, Athanassopoulos CM, Missiri DA, Giannopoulou PC, Vlachogiannis IA, Papadopoulos GE, et al. Chloramphenicol Derivatives as Antibacterial and Anticancer Agents: Historic Problems and Current Solutions. Antibiotics (Basel). 2016 Jun; 5(2):20.

4. Choudhary D, Goykar H, Kalyane D, Sreeharsha N, Tekade RK. Prodrug design for improving the biopharmaceutical properties of therapeutic drugs. In: Tekade RK, editor. Advances in Pharmaceutical Product Development and Research. The Future of Pharmaceutical Product Development and Research. United Kingdom: Academic Press; 2020. pp.179-226.

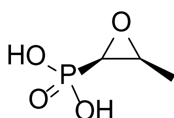
5. Chuyên luận Chloramphenicol. Dược điển Việt Nam V. Nhà xuất bản Y học; 2018.

6. Svetlov MS, Plessa E, Chen CW, Bougas A, Krokidis MG, Dinos GP, et al. High-resolution crystal structures of ribosome-bound chloramphenicol and erythromycin provide the ultimate basis for their competition. RNA. 2019 May; 25(5):600-606.

7. Bulkley D, Innis CA, Blaha G, Steitz TA. Revisiting the structures of several antibiotics bound to the bacterial ribosome. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010 Oct; 107(40): 17158-17163.

5.5. NHÓM PHOSPHONIC

1. GIỚI THIỆU



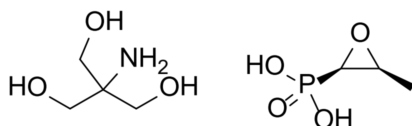
Hình 5.5.1. Fosfomycin

Fosfomycin (trước đây được gọi là phosphonomycin) là kháng sinh có nguồn gốc tự nhiên, được phân lập từ dịch nuôi cấy vi khuẩn *Streptomyces fradiae* tại Tây Ban Nha vào năm 1969. Fosfomycin là thành quả của chương trình nghiên cứu tìm kiếm kháng sinh mới có cơ chế tác dụng ức chế tổng hợp peptidoglycan [1].

Fosfomycin có tên IUPAC là (1*R*,2*S*)-1,2-epoxypropylphosphonic acid: nhóm methyl và nhóm phosphonic acid gắn trên vòng epoxide tạo cấu hình *cis* [2].

2. TÍNH CHẤT LÝ HÓA, BÀO CHẾ, BẢO QUẢN VÀ SỬ DỤNG

Fosfomycin có tính acid (phosphonic acid) nên được bào chế dưới dạng muối. Thuốc có thể sử dụng đường uống dưới dạng muối fosfomycin tromethamine (còn gọi là fosfomycin trometamol) và fosfomycin calcium. Dạng muối natri (fosfomycin disodium) được sử dụng đường tiêm tĩnh mạch.



Hình 5.5.2. Fosfomycin tromethamine

Bào chế fosfomycin dưới dạng muối còn giúp ổn định vòng epoxide (oxirane) vì cấu trúc này dễ bị thủy phân mở vòng trong môi trường acid. Đây cũng là lý do thuốc phải được bảo quản trong lọ đậy kín, tránh ẩm.

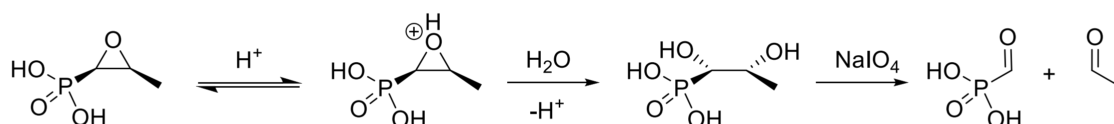
Tính thân nước và phân tử khối nhỏ nên thuốc dễ dàng thấm vào các cơ quan, và mô mềm, kể cả thần kinh trung ương, xương, van tim, túi mật,… Tính chất này của fosfomycin cũng được phản ánh bởi thời gian bán thải ngắn của thuốc (5.7 giờ đối với fosfomycin tromethamine) và thuốc được thải chủ yếu qua thận mà không bị chuyển hóa. Sau khi uống 1 liều 3 g fosfomycin trometamol, nồng độ thuốc trong nước tiểu đạt đỉnh trong vòng 4 giờ. Thuốc được duy trì ở nồng độ cao trong nước tiểu trong 1-2 ngày, đủ để loại trừ hầu hết các vi khuẩn gây bệnh đường tiết niệu [3,4].

3. KIỂM NGHIỆM [5,6]

- Định tính:

+ Phổ hấp thu hồng ngoại, pH, năng suất quay cực.

+ Vòng epoxide của fosfomycin bị mở vòng bởi xúc tác perchloric acid ($HClO_4$) tạo sản phẩm diol, sản phẩm này bị oxy hóa bởi natri periodate ($NaIO_4$) tạo thành aldehyde tương ứng.



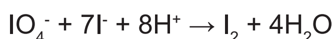
Hình 5.5.3. Cơ chế của phản ứng định tính fosfomycin dựa trên nhóm epoxide

- Khi thêm KI, $NaIO_4$ trong mẫu thử đã phản ứng hết nên không có gì xảy ra, dung dịch không màu. Mẫu trắng có phản ứng giữa $NaIO_4$ và KI tạo I_2 (dưới dạng phức KI_3) nên làm dung dịch có màu cam.
- Khi thêm ammonium molybdate ($(NH_4)_2MoO_4$) và aminohydroxynaphthalenesulfonic acid tạo thành phức hợp có màu xanh (phản ứng của nhóm phosphonic).

+ Fosfomycin calcium cho phản ứng của ion Ca^{2+}; Fosfomycin disodium cho phản ứng của ion Na^+.

- Kiểm tra tạp chất:

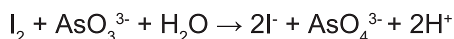
+ Fosfomycin calcium, fosfomycin disodium: Tạp chất là sản phẩm diol tạo thành do vòng epoxide bị thủy phân [calcium (1,2-dihydroxypropyl)phosphonate, disodium (1,2-dihydroxypropyl)phosphonate]. Trong điều kiện thử nghiệm không có acid, fosfomycin không bị thủy phân nên chỉ có tạp chất diol có sẵn trong mẫu phản ứng với $NaIO_4$. Lượng $NaIO_4$ còn dư phản ứng với KI tạo I_2. I_2 tạo thành được chuẩn độ bằng natri arsenite với chỉ thị hồ tinh bột.



$$IO_4^- + 7I^- + 8H^+ \rightarrow I_2 + 4H_2O$$

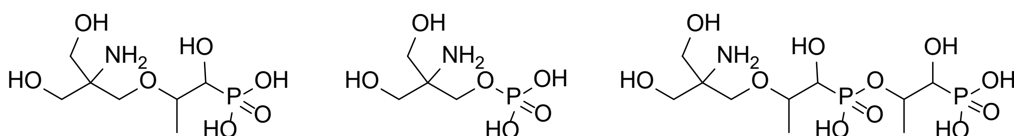


$$(I_2 + KI \rightarrow KI_3)$$



$$I_2 + AsO_3^{3-} + H_2O \rightarrow 2I^- + AsO_4^{3-} + 2H^+$$

+ Fosfomycin tromethamine: ngoài tạp chất (1,2-dihydroxypropyl)phosphonic acid, nhóm tromethamine còn tạo ra các tạp chất như Hình 5.5.4:



Hình 5.5.4. Tạp chất tạo thành từ nhóm tromethamine

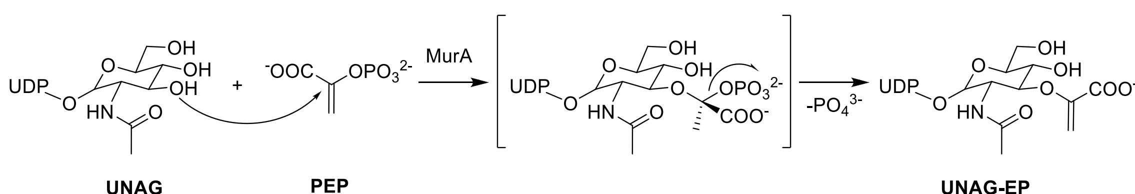
- Định lượng:

Fosfomycin calcium, fosfomycin disodium: Mẫu thử được thủy phân bằng $HClO_4$ và phản ứng với $NaIO_4$. Thêm KI vào mẫu thử và định lượng iodine bằng phương pháp chuẩn độ với natri arsenite, chỉ thị hồ tinh bột.

Fosfomycin tromethamine: Định lượng bằng phương pháp sắc ký lỏng.

4. CƠ CHẾ KHÁNG KHUẨN - PHỔ KHÁNG KHUẨN

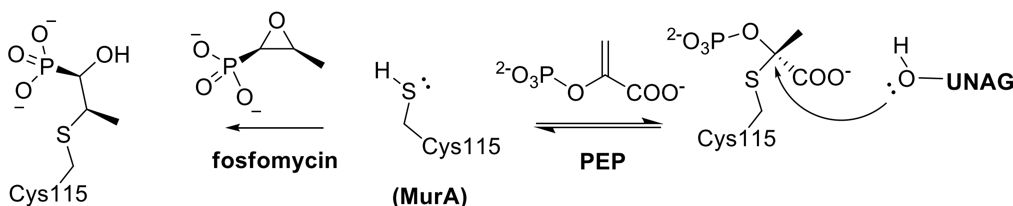
Fosfomycin ức chế enzyme MurA (UDP-*N*-acetylglucosamine enolpyruvyl transferase) - một enzyme tham gia bước đầu tiên trong quá trình tổng hợp peptidoglycan. MurA xúc tác phản ứng giữa UDP-*N*-acetylglucosamine (UNAG) và phosphoenolpyruvate (PEP) tạo thành UDP-*N*-acetylglucosamine-enolpyruvate (UNAG-EP). Phản ứng này được thực hiện trong tế bào chất của vi khuẩn.



Hình 5.5.5. Sinh tổng hợp UNAG-EP của tế bào vi khuẩn

Fosfomycin có thể lợi dụng các protein vận chuyển (transporter) L-α-glycerophosphate (GlpT) và hexose-6-phosphate (UhpT) để từ môi trường đi vào tế bào chất của vi khuẩn [7].

Vòng oxirane của fosfomycin phản ứng với nhóm -SH của cysteine (Cys115 ở *E. coli*) tại trung tâm xúc tác của MurA - có vai trò quan trọng tạo liên kết cộng hóa trị với cơ chất PEP - nên dẫn đến bất hoạt enzyme (Hình 5.5.6) [8].



Hình 5.5.6. Cơ chế tác dụng của fosfomycin [8]

Fosfomycin là kháng sinh diệt khuẩn phổ rộng, có tác dụng trên nhiều chủng vi khuẩn gram dương và gram âm quan trọng như *Staphylococcus aureus* (kể cả MRSA), *Staphylococcus epidermidis, Streptococcus pneumoniae, Enterococcus faecalis, Escherichia coli, Proteus* spp., *Klebsiella pneumoniae, Enterobacter* spp., *Serratia marcescens, Salmonella typhi*.

Thuốc có độ nhay cảm khác nhau trên các chủng *Pseudomonas aeruginosa,* nhưng có hiệu quả tốt khi phối hợp với các thuốc nhóm β-lactam như cefepim, aztreonam, meropenem.

Fosfomycin không có tác dụng trên *Acinetobacter, Vibrio fischeri, Chlamydia trachomatis* và *Bacteroides* [7].

Fosfomycin có cơ chế hoàn toàn khác biệt với các nhóm kháng sinh khác nên có tác dụng hiệp đồng với nhiều kháng sinh nhóm β-lactam, aminoglycoside, quinolone [9].

5. CƠ CHẾ ĐỀ KHÁNG CỦA VI KHUẨN [7,10,11]

5.1. Ngăn thuốc vào trong tế bào

Fosfomycin lợi dụng các protein vận chuyển L-α-glycerophosphate và hexose-6-phosphate của vi khuẩn (GlpT và UhpT) để đi vào trong tế bào. Vì vậy, vi khuẩn có thể đề kháng với thuốc bằng cách đột biến hoặc giảm sản xuất GlpT và UhpT để giảm lượng thuốc vào được trong tế bào.

5.2. Thay đổi cấu trúc MurA

Một số vi khuẩn như *Mycobacterium tuberculosis, Chlamydia trachomatis* có khả năng đề kháng tự nhiên với fosfomycin do cysteine (nơi tạo liên kết với fosfomycin) được thay thế bằng aspartate ở trung tâm xúc tác của MurA.

Các nghiên cứu đột biến trong phòng thí nghiệm cho thấy *E.coli* có thể tạo ra các chủng đột biến bằng cách thay thế cysteine bằng aspartate tạo thành MurA đột biến nhưng vẫn hoạt động bình thường.

5.3. Tăng sản xuất MurA

Do fosfomycin tạo liên kết cộng hóa trị với MurA nên vi khuẩn có thể tăng sản xuất MurA để bù lại cho lượng enzyme bị bất hoạt.

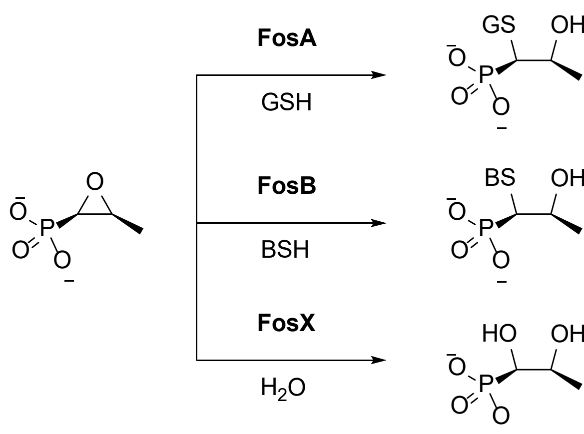
5.4. Sản xuất enzyme bất hoạt thuốc

Cấu trúc vòng oxirane của fosfomycin vừa tham gia vào cơ chế tác dụng của thuốc, vừa là điểm yếu làm cho thuốc dễ dàng bị bất hoạt bởi các enzyme vi khuẩn xúc tác phản ứng mở vòng.

- **FosA** là một glutathione-S-transferase xúc tác phản ứng cộng mở vòng oxirane bởi glutathione (GSH).

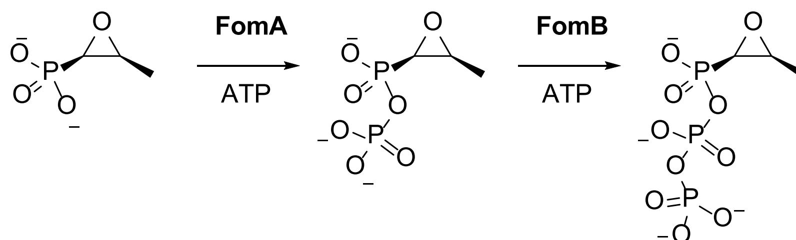
- **FosB** là một thiol-S-transferase xúc tác phản ứng cộng mở vòng oxirane bởi bacillithiol (BSH).

- **FosX** là một hydrolase xúc tác phản ứng cộng mở vòng oxirane bởi H_2O (thủy phân).



Hình 5.5.7. Sự mở vòng làm bất hoạt fosfomycin bởi enzyme của vi khuẩn

Ngoài ra, các chủng vi khuẩn sản xuất fosfomycin *(Streptomyces và Pseudomonas syringae)* có cơ chế riêng nhằm chống lại tác động của thuốc. Các vi khuẩn này sản xuất các kinase - **FomA** và **FomB** - có vai trò gắn nhóm phosphate lên fosfomycin làm bất hoạt thuốc.



Hình 5.5.8. Sự bất hoạt fosfomycin bởi các kinase của vi khuẩn

6. ỨNG DỤNG TRONG TRỊ LIỆU [3]

Fosfomycin được chỉ định trong điều trị viêm bàng quang ở phụ nữ và các bệnh nhiễm trùng đường niệu gây ra bởi vi khuẩn nằm trong phổ kháng khuẩn của thuốc.

Liều được khuyến nghị (fosfomycin trometamol) để điều trị viêm bàng quang và nhiễm trùng đường niệu không biến chứng là 3 g (liều duy nhất). Trong trường hợp có biến chứng thuốc phải được sử dụng ở liều cao hơn (3 liều, 3 g/liều mỗi 2-3 ngày).

7. TÁC DỤNG PHỤ - ĐỘC TÍNH [3]

Fosfomycin có chống chỉ định ở các bệnh nhân mẫn cảm với thuốc. Nhìn chung, thuốc tương đối an toàn và có thể sử dụng ở phụ nữ có thai.

Các tác dụng phụ thường gặp nhất của fosfomycin dạng uống là rối loạn tiêu hóa nhẹ (tiêu chảy, buồn nôn, đau bụng,…).

Câu hỏi tự lượng giá

Nhóm chức nào của fosfomycin vừa tham gia vào cơ chế kháng khuẩn, vừa là điểm yếu bị tấn công bởi các enzyme kháng thuốc?

Danh mục từ viết tắt

GSH: glutathione

BSH: bacillithiol

MRSA: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

PEP: phosphoenolpyruvate

UNAG: UDP-*N*-acetylglucosamine

UNAG-EP: UDP-*N*-acetylglucosamine-enolpyruvate

Tài liệu tham khảo

1. Hendlin D, Stapley EO, Jackson M, Wallick H, Miller AK, Wolf FJ, et al. Phosphonomycin, a new antibiotic produced by strains of streptomyces. Science. 1969 Oct; 166(3901):122-123.
2. Christensen BG, Leanza WJ, Beattie TR, Patchett AA, Arison BH, Ormond RE, et al. Phosphonomycin: structure and synthesis. Science. 1969 Oct 3; 166(3901):123-125.
3. Falagas ME, Vouloumanou EK, Samonis G, Vardakas KZ. Fosfomycin. Clin Microbiol Rev. 2016 Apr; 29(2):321-347.
4. Cao Y, Peng Q, Li S, Deng Z, Gao J. The intriguing biology and chemistry of fosfomycin: the only marketed phosphonate antibiotic. RSC Adv. 2019 Dec; 9(72):42204-42218.
5. British Pharmacopoeia 2016.
6. Dược điển Việt Nam 5. Nhà xuất bản Y học; 2018.

7. Silver LL. Fosfomycin: Mechanism and Resistance. Cold Spring Harb Perspect Med. 2017 Feb; 7(2):a025262.

8. Zhu JY, Yang Y, Han H, Betzi S, Olesen SH, Marsilio F et al. Functional consequence of covalent reaction of phosphoenolpyruvate with UDP-N-acetylglucosamine 1-carboxyvinyltransferase (MurA). J Biol Chem. 2012 Apr; 287(16):12657-12667.

9. Kastoris AC, Rafailidis PI, Vouloumanou EK, Gkegkes ID, Falagas ME. Synergy of fosfomycin with other antibiotics for Gram-positive and Gram-negative bacteria. Eur. J. Clin. Pharmacol. 2010 Feb; 66(4):359-368.

10. Castañeda-García A, Blázquez J, Rodríguez-Rojas A. Molecular Mechanisms and Clinical Impact of Acquired and Intrinsic Fosfomycin Resistance. Antibiotics (Basel). 2013 Apr; 2(2):217-236.

11. Falagas ME, Athanasaki F, Voulgaris GL, Triarides NA, Vardakas KZ. Resistance to fosfomycin: Mechanisms, Frequency and Clinical Consequences. Int J Antimicrob Agents. 2019 Jan; 53(1):22-28.

5.6. CÓ CẤU TRÚC PEPTIDE

Các hoạt chất được đề cập

Kháng sinh họ glycopeptide

Vancomycin
Telavancine
Teicoplanine
Dalbavancine
Oritavancine

Các kháng sinh peptide khác

Polymyxin B
Colistin (polymyxin E)
Daptomycin

Phần A - KHÁNG SINH NHÓM GLYCOPEPTIDE

1. GIỚI THIỆU [1]

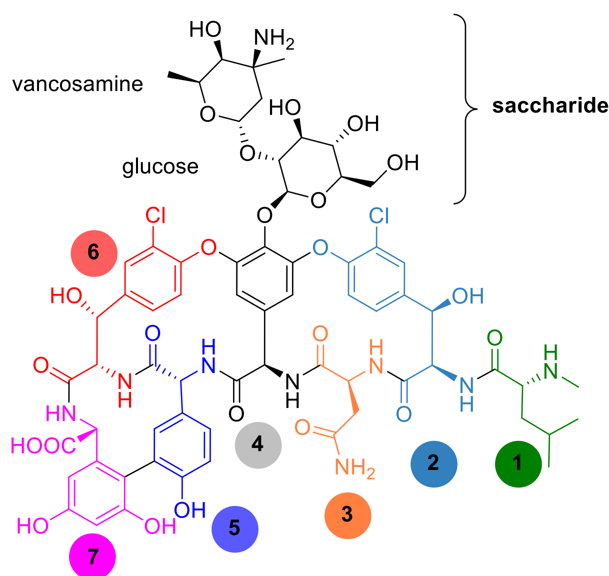
Trong những năm 1950, sau một thời gian penicillin được sử dụng rộng rãi, các chủng vi khuẩn *Staphylococcus* đề kháng penicillin xuất hiện ngày càng nhiều. Trong nỗ lực tìm ra kháng sinh mới, một mẫu đất từ đảo Borneo được một nhà hóa học của hãng Eli Lilly phân tích. Ông phân lập được vi khuẩn *Amycolatopsis orientalis* (trước đây được gọi là *Streptomyces orientalis*) sản xuất ra một hợp chất có tác dụng kháng khuẩn mạnh, kể cả *Staphylococcus* kháng penicillin. Một ưu điểm khác là hợp chất này tạo ra tần suất đề kháng trên vi khuẩn thấp hơn nhiều so với penicillin. Vì vậy, hợp chất này được đặt tên là Vancomycin, theo từ tiếng Anh "vanquish" (chinh phục).

Trước đây, vancomycin ít được sử dụng đến do có độc tính cao và với sự ra đời của các penicillin kháng tụ cầu (methicillin,...). Tuy nhiên, với tình hình đề kháng kháng sinh ngày càng phức tạp, ngày nay vancomycin và các thuốc cùng nhóm nói chung là các kháng sinh quan trọng liên quan đến sự sống còn của nhiều bệnh nhân.

2. ĐẶC ĐIỂM CẤU TRÚC

Các kháng sinh nhóm glycopeptide có bản chất là một **heptapeptide** cấu thành bởi bảy amino acid (gồm đa số các amino acid chứa vòng thơm và một vài amino acid béo). Ngoài ra trên heptapeptide này có gắn các cấu trúc **saccharide.**

Có sự liên kết bắc cầu giữa các cấu trúc vòng thơm tạo hệ thống đa vòng hình thành cấu hình cố định trong không gian. Cấu hình này tạo thành một gọng kìm kẹp chặt cơ chất (xem phần cơ chế kháng khuẩn) [2].



Hình 5.6.1. Cấu trúc của vancomycin. Các amino acid của heptapeptide được đánh số từ 1 đến 7

(1): *N*-methyl-D-leucine; (2): *m*-chloro-β-hydroxy-D-tyrosine; (3): asparagine; (4) (2-[α-4-L-*epi*-vancosaminyl]-β-1-D-glucosyl)-D-phenylglycine; (5): *p*-hydroxy-D-phenylglycine; (6): *m*-chloro-β-hydroxy-D-tyrosine; (7): *m,m*-dihydroxy-L-phenylglycine.

Ngoài ra, các lipoglycopeptide dẫn xuất của vancomycin có thêm một phần mạch nhánh thân dầu: mạch carbon bão hòa đối với teicoplanin, telavancin, dalbavancin; cấu trúc biphenyl đối với oritavancin (xem phần các thuốc trong nhóm).

3. TÍNH CHẤT LÝ HÓA, BÀO CHẾ, BẢO QUẢN VÀ SỬ DỤNG

Kháng sinh glycopeptide được sử dụng dưới dạng muối tan trong nước (vancomycin hydrochloride, telavancin hydrochloride, oritavancin diphosphate,...) và bào chế thành các chế phẩm bột pha tiêm. Các glycopeptide không hấp thu đường tiêu hóa nên thường được sử dụng dưới dạng tiêm tĩnh mạch. Thuốc chỉ được sử dụng đường uống trong trường hợp điều trị viêm ruột gây ra bởi *Clostridium difficile*. Bảo quản từ 2-8 °C trong lọ kín, vô trùng và tránh ánh sáng.

4. KIỂM NGHIỆM [3]

- *Định tính*: phổ IR (teicoplanin), sắc ký lỏng (vancomycin), phản ứng của ion Cl^- (nếu là muối hydrochloride).

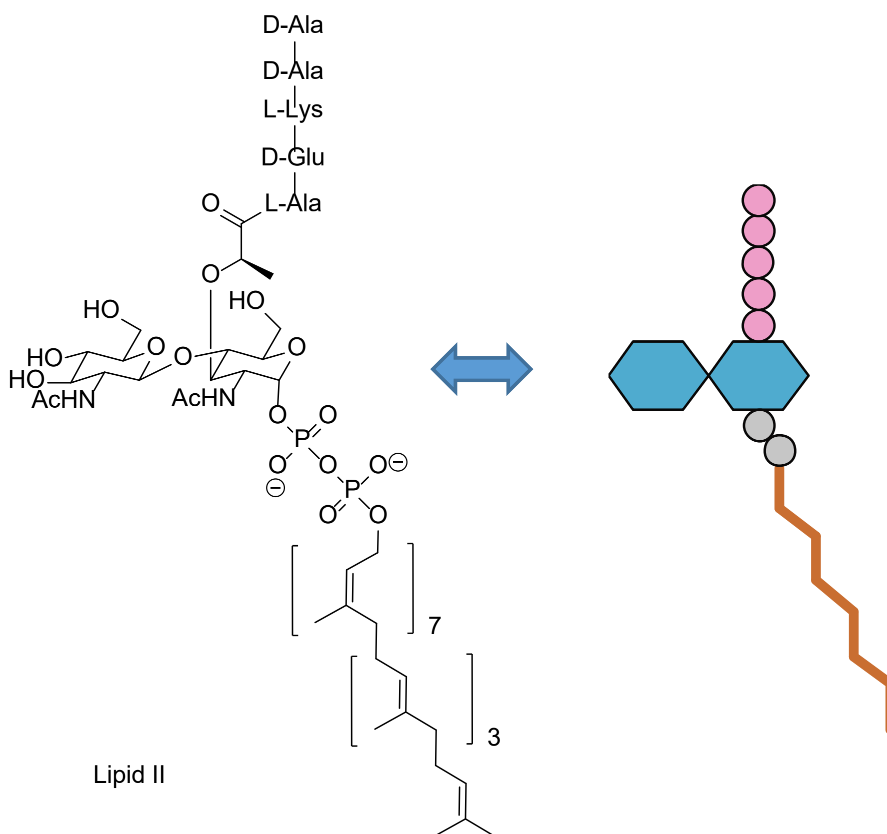
- *Kiểm tinh khiết:* xác định tạp chất liên quan, độ trong của dung dịch, pH, độ hấp thu UV.

- *Định lượng:* theo phương pháp thử vi sinh vật.

5. CƠ CHẾ KHÁNG KHUẨN - PHỔ KHÁNG KHUẨN

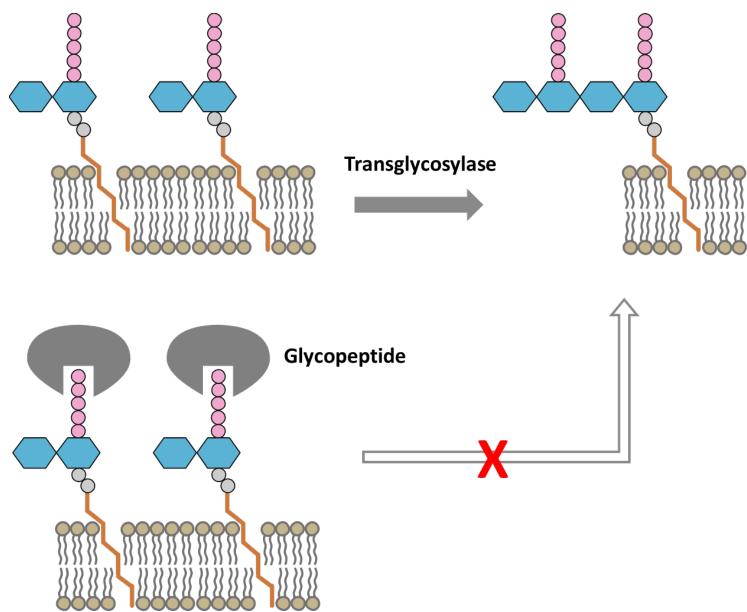
Các glycopeptide thuộc nhóm kháng sinh ức chế sinh tổng hợp thành tế bào vi khuẩn.

Trong quá trình tổng hợp peptidoglycan, một chất trung gian của peptidoglycan được gọi là **lipid II.** Hai đơn vị lipid II cùng tham gia phản ứng nối chuỗi glycan (transglycosylation) bởi enzyme transglycosylase. Lipid II có cấu trúc gồm một phần lipid "đóng cọc" vào màng sinh chất, cầu nối pyrophosphate, phần disaccharide (*N*-acetylmuramic acid và *N*-acetylglucosamine) và phần pentapeptide có đuôi D-Ala-D-Ala (Hình 5.6.2) [4].



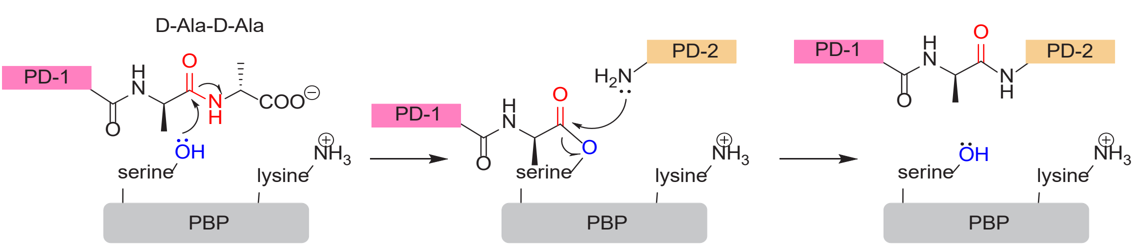
Hình 5.6.2. Cấu trúc Lipid II

Các glycopeptide gắn chặt với đuôi D-Ala-D-Ala của lipid II, có vai trò như bức bình phong ngăn các lipid II gắn vào transglycosylase để thực hiện phản ứng nối chuỗi glycan (Hình 5.6.3).



Hình 5.6.3. Cơ chế tác dụng của kháng sinh glycopeptide

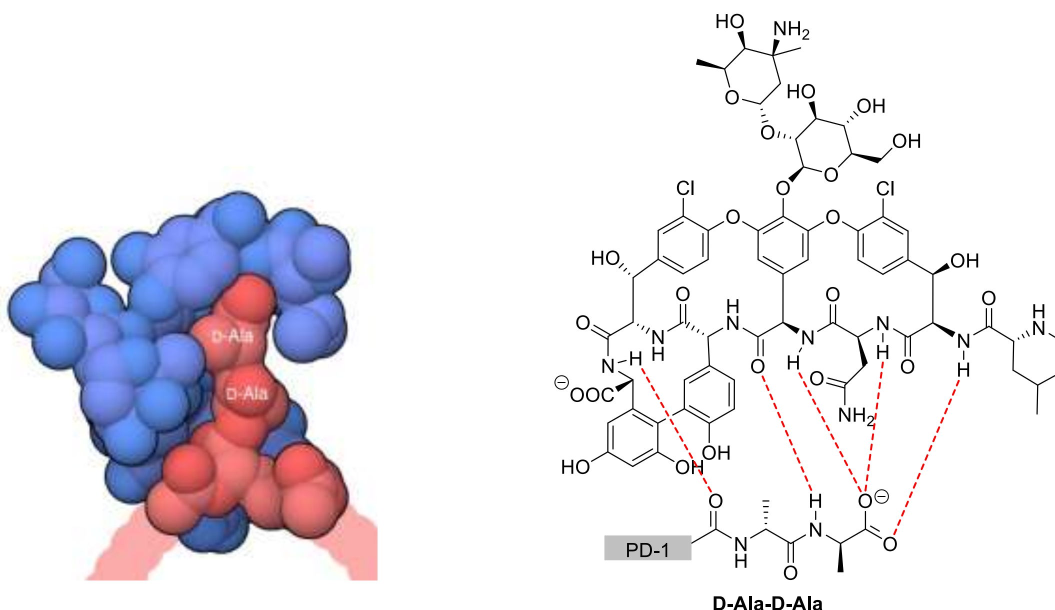
Bên cạnh đó, do thuốc gắn chặt với đuôi D-Ala-D-Ala của các chuỗi peptidoglycan đang hình thành nên ngăn cấu trúc này tham gia phản ứng chuyển vị peptide (transpeptidation) xúc tác bởi các enzyme Penicillin-Binding Protein (PBP) (Hình 5.6.4) (xem thêm phần cơ chế tác dụng của kháng sinh họ β-lactam).



Hình 5.6.4. Cơ chế phản ứng chuyển vị (transpeptidation)

Tóm lại, các glycopeptide ngăn các phản ứng tổng hợp peptidoglycan. Hậu quả là cấu trúc thành tế bào vi khuẩn bị phá hủy dẫn đến ly giải tế bào.

Phân tích cấu trúc tinh thể cho thấy mạch heptapeptide của vancomycin có khả năng tạo 5 liên kết hydro với đuôi D-Ala-D-Ala (Hình 5.6.5), giải thích độ bền của phức hợp vancomycin và D-Ala-D-Ala.



Hình 5.6.5. Bên trái: hình ảnh phác họa cấu trúc tinh thể giữa vancomycin (màu xanh) và một dẫn xuất của D-Ala-D-Ala (màu đỏ) [5];
Bên phải: liên kết hydro giữa vancomycin và D-Ala-D-Ala [6]

Các kháng sinh nhóm glycopeptide có khối lượng phân tử lớn nên không thể vượt qua màng ngoài của vi khuẩn gram âm. Điều này giải thích phổ kháng khuẩn của nhóm kháng sinh này chỉ thu hẹp trên vi khuẩn gram dương (không có tác dụng trên vi khuẩn gram âm và Mycobacteria). Đặc biệt, các glycopeptide có hoạt tính trên MRSA, streptococci kháng penicillin và enterococci kháng ampicillin [2,7].

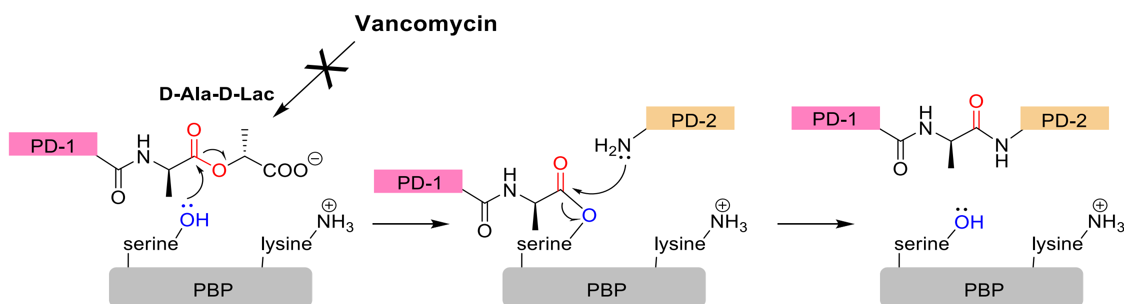
6. CƠ CHẾ ĐỀ KHÁNG CỦA VI KHUẨN

Hiện nay xuất hiện nhiều chủng vi khuẩn đề kháng vancomycin như vancomycin-resistant *S. aureus* (VRSA), vancomycin-resistant enterococci (VRE). Vi khuẩn đề kháng lại tác dụng của các kháng sinh glycopeptide bằng cách

- Tăng cường quá trình sinh tổng hợp peptidoglycan làm bão hòa thuốc, đồng thời độ dày của lớp peptidoglycan tăng làm thuốc khó khuếch tán vào các lớp bên trong.

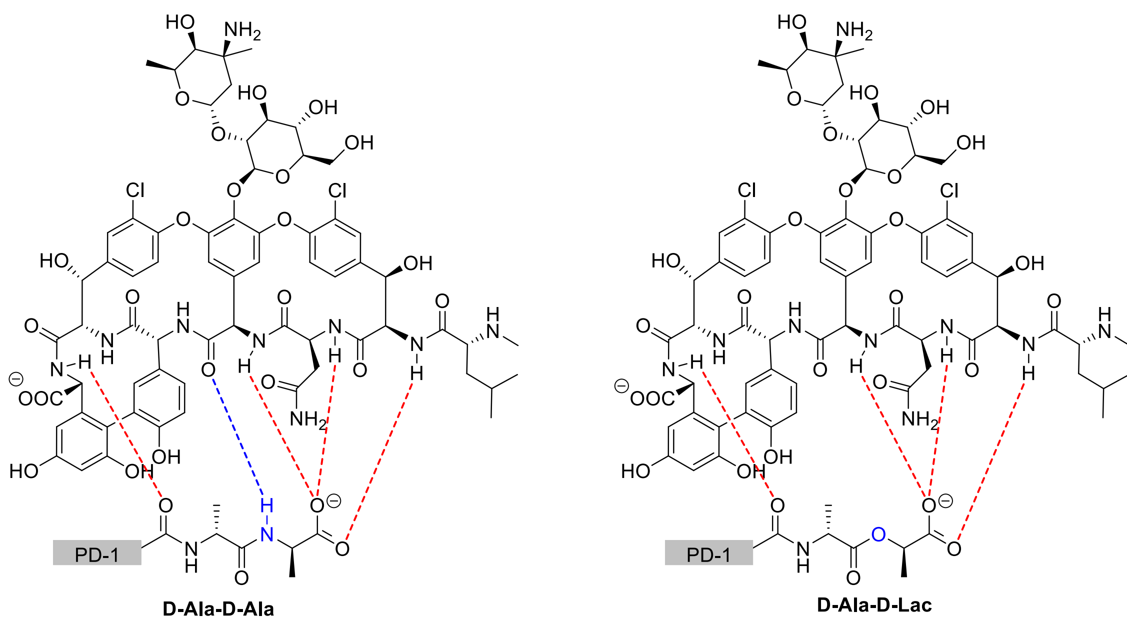
- Thay đổi quá trình sinh tổng hợp peptidoglycan để thay đổi cấu trúc đích tác dụng của thuốc [8].

Enzyme **VanA** (D-Ala-D-Lac ligase) thêm một nhóm D-lactate (D-Lac) thay cho D-alanine ở đuôi D-Ala-D-Ala của chuỗi peptidoglycan đang hình thành. Sự thay đổi này không ảnh hưởng đến quá trình tổng hợp peptidoglycan, nhưng làm giảm 1000 lần ái lực của vancomycin và teicoplanin trên D-Ala-D-Lac so với D-Ala-D-Ala (Hình 5.6.6).



Hình 5.6.6. Quá trình chuyển vị peptide của peptidoglycan có đuôi D-Ala-D-Lac

Sự giảm sút ái lực gắn kết giữa vancomycin và D-Ala-D-Lac được giải thích bởi liên kết hydro bị mất đi giữa N-H của D-Ala và C=O thuộc về amino acid thứ 4 của vancomycin (Hình 5.6.7) [9].



Hình 5.6.7. So sánh các liên kết hydro giữa vancomycin và D-Ala-D-Ala /D-Ala-D-Lac [9]

Tác dụng của VanA được tối ưu hóa nhờ phối hợp với các enzyme khác như **VanH** là một α-keto acid reductase có nhiệm vụ tổng hợp D-Lac từ pyruvate để cung cấp nguyên liệu cho VanA. **VanX** (D-Ala-D-Ala dipeptidase) thủy phân những chuỗi peptidoglycan còn gắn đuôi D-Ala-D-Ala còn sót lại [10].

Mặc dù đều là D-Ala-D-Lac ligase, VanA gây đề kháng với cả vancomycin và teicoplanin, còn **VanB** không gây đề kháng với teicoplanin.

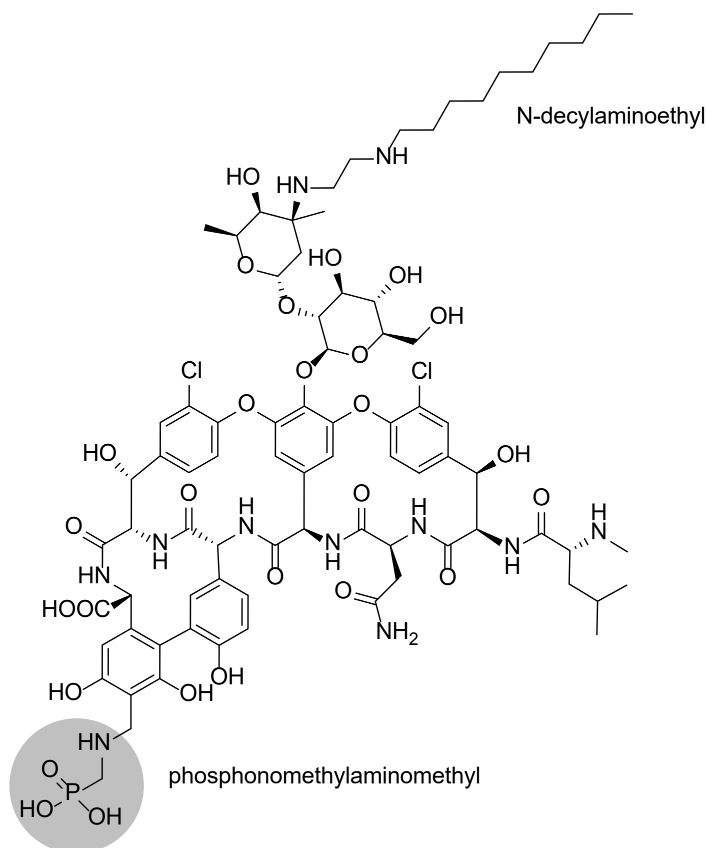
Enzyme **VanC** có cơ chế tương tự VanA/B nhưng là một D-Ala-D-Ser ligase thay D-Alanine bằng D-Serine và cũng làm giảm ái lực của thuốc [9].

7. CÁC THUỐC TRONG NHÓM

7.1. Vancomycin và telavancin

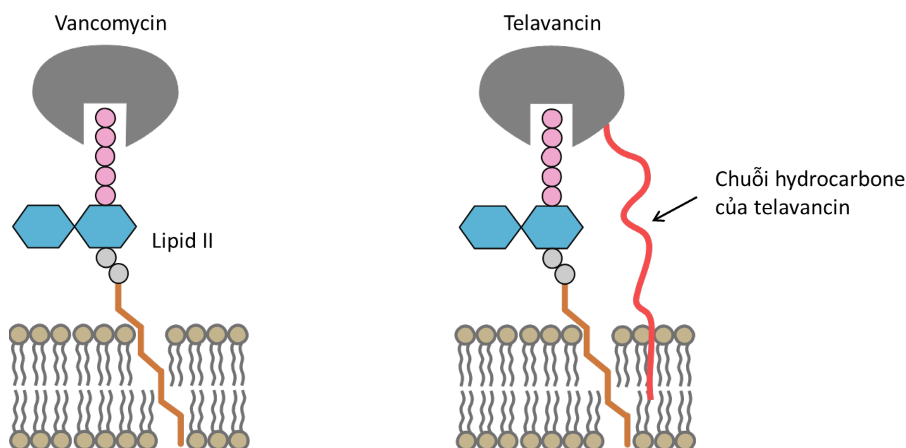
Vancomycin là thuốc đầu tiên trong nhóm và được sử dụng nhiều nhất. Tuy nhiên vancomycin có một số nhược điểm cần khắc phục: thời gian bán thải ngắn nên cần truyền tĩnh mạch 2 lần/ngày. Vancomycin không được tiêm bắp vì gây đau, thậm chí hoại tử nơi tiêm. Thuốc cần được truyền tĩnh mạch chậm trong vòng 1 giờ để tránh gây "hội chứng người đỏ" (xem phần tác dụng phụ - độc tính). Nồng độ thuốc cần được theo dõi và hiệu chỉnh, đặc biệt ở người suy giảm chức năng thận để tránh gây độc trên thận. Đặc biệt, độ nhạy cảm của các chủng vi khuẩn đối với vancomycin ngày càng giảm nên cần nghiên cứu và phát triển các thuốc mới thay thế.

Telavancin là dẫn xuất của vancomycin, được gắn thêm đuôi *N*-decylaminoethyl thân dầu trên vancosamine. Sự biến đổi này làm tăng hoạt tính kháng khuẩn nhưng ngược lại làm tăng độ thân dầu của dẫn xuất tạo thành so với vancomycin và ảnh hưởng đến các thông số dược động học (như tăng thời gian bán thải, tăng tích tụ trong các mô, cơ quan). Để cân bằng lại tính thân dầu và cải thiện dược động học, telavancin có thêm nhóm thân nước (phosphonomethylaminomethyl) (Hình 5.6.8) [11].



Hình 5.6.8. Cấu trúc telavancin

Telavancin và các lipoglycopeptide khác có cơ chế kháng khuẩn tương tự như vancomycin (gắn trên lipid II và ức chế sinh tổng hợp thành tế bào). Bên cạnh đó, hoạt tính kháng khuẩn của telavancin (và các lipoglycopeptide khác) tốt hơn vancomycin (Bảng 5.6.1) có thể được giải thích bởi một cơ chế khác: phần đuôi hydrocarbon thân dầu của telavancin trong phức hợp telavancin-lipid II "thả neo" vào màng lipid của vi khuẩn làm tăng độ bền của phức hợp, đồng thời làm rối loạn chức năng của màng tế bào (Hình 5.6.9) [12].



Hình 5.6.9. Minh họa cấu trúc phức hợp vancomycin/telavancin và lipid II

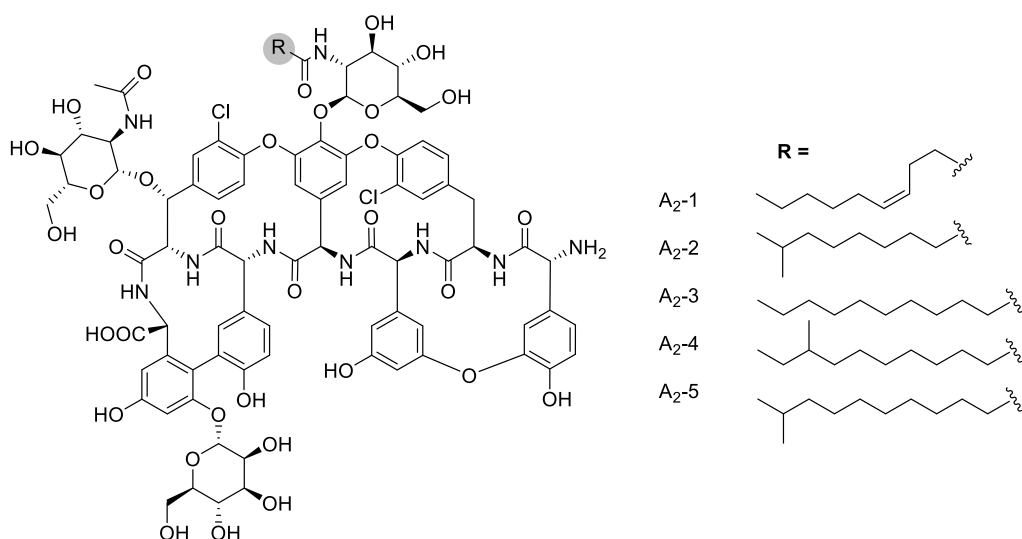
Bảng 5.6.1. MIC_{90} của vancomycin và telavancin trên một số chủng vi khuẩn [13]

Chủng vi khuẩn	**MIC_{90} (mg/L)**	
	Vancomycin	Telavancin
MRSA	1	0.06
VRSA	> 32	1
E. faecium nhạy cảm với vancomycin	1	0,03
E. faecium kháng vancomycin (VanA)	> 16	> 1
S. pneumoniae	0.25	0.015
S. pyogenes	0.5	0.03

Telavancin vẫn phải được truyền tĩnh mạch chậm trong 60 phút, lặp lại mỗi 24 giờ trong vòng 7-14 ngày [14].

7.2. Teicoplanin và dalbavancin

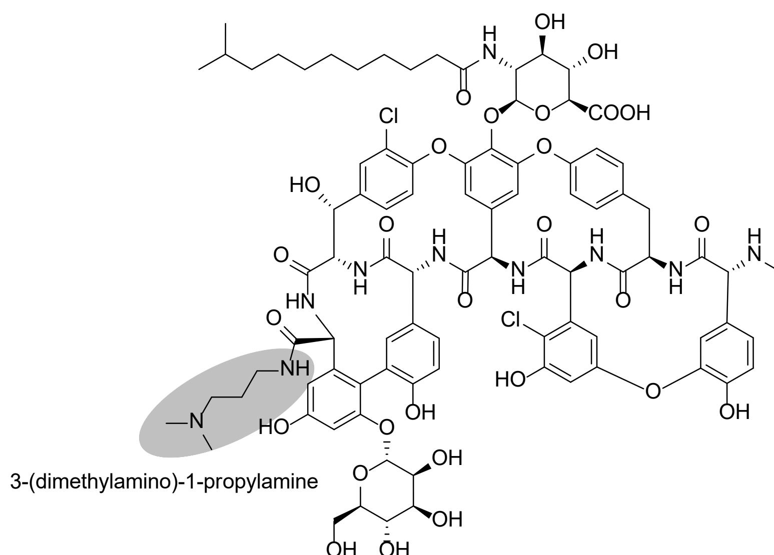
Teicoplanin là một hỗn hợp các lipoglycopeptide có nguồn gốc tự nhiên, do vi khuẩn *Actinoplanes teichomyceticus* (một loại vi khuẩn sống trong đất được thu thập tại Ấn Độ) sản xuất. Teicoplanin gồm năm hợp chất được đánh số từ A_2-1 đến A_2-5 tùy vào cấu trúc của chuỗi hydrocarbon (Hình 5.6.10) [15].



Hình 5.6.10. Cấu trúc teicoplanin

Nghiên cứu so sánh giữa vancomycin và teicoplanin cho thấy cả hai thuốc có hiệu quả trên lâm sàng tương đương nhưng teicoplanin gây ra ít tác dụng phụ hơn (độc thận, hội chứng người đỏ). Ngoài ra, teicoplanin còn có thể được sử dụng đường tiêm bắp [16].

Dalbavancin, được FDA cấp phép năm 2014, là một dẫn xuất bán tổng hợp từ một lipoglycopeptide (được gọi là A40926) sản xuất bởi *Nonomuraea gerenzanensis* và có cấu trúc tương đồng với teicoplanin. Nhóm carboxylic acid tận cùng của chuỗi heptapeptide được chuyển thành dẫn xuất amide với 3-(dimethylamino)-1-propylamine. Sự thay đổi này làm tăng hoạt tính kháng khuẩn của dalbavancin trên staphylococci so với teicoplanin và tiền chất A40926.



Hình 5.6.11. Cấu trúc dalbavancin

So với vancomycin và teicoplanin thì dalbavancin có hoạt tính kháng khuẩn cao hơn trên hầu hết các chủng vi khuẩn (nằm trong phổ kháng khuẩn của kháng sinh glycopeptide) như staphylococci *(S. aureus)*, enterococci *(E. faecalis),* streptococci *(S. pneumoniae),*... Tuy nhiên, dalbavancin cũng có hoạt tính kém đi trên các chủng enterococci kháng vancomycin (VRE) [17,18].

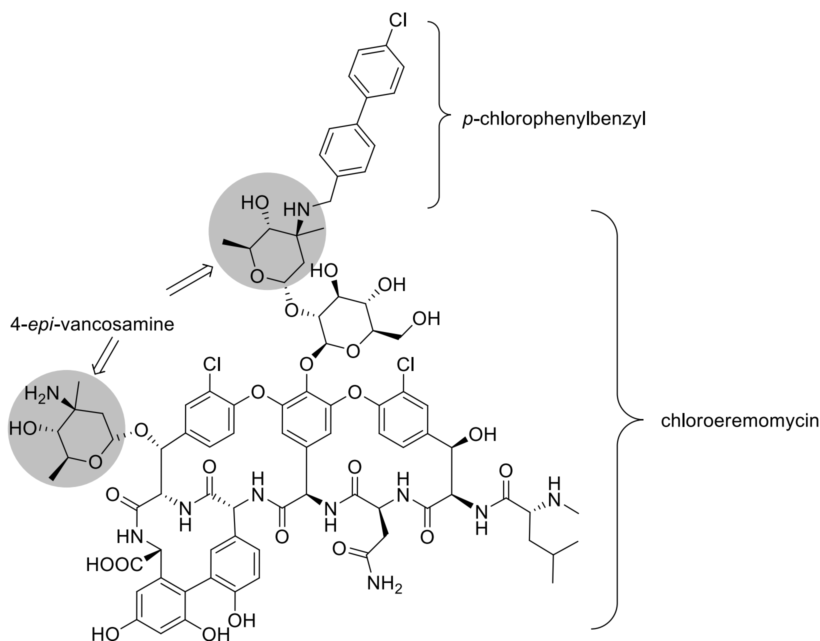
Bảng 5.6.2. MIC_{50} của vancomycin, teicoplanin và dalbavancin trên một số chủng vi khuẩn [17]

Chủng vi khuẩn	**MIC_{50} (mg/L)**		
	Vancomycin	Teicoplanin	Dalbavancin
S.aureus kháng oxacillin	1	0.5	0.06
E. faecalis nhạy cảm với vancomycin	-	≤ 0.12	0.03
E. faecalis kháng vancomycin	-	> 16	4
S. pneumoniae kháng penicillin	0.25	-	≤ 0.015

Dalbavancin còn có ưu điểm về dược động học: thời gian bán thải dài nên thuốc chỉ cần truyền tĩnh mạch 1000 mg và thêm 500 mg sau 1 tuần [19].

7.3. Oritavancin

Oritavancin, được FDA cấp phép lưu hành năm 2014, là một kháng sinh bán tổng hợp qua 2 giai đoạn. Giai đoạn 1, chloroeremomycin được sản xuất bởi vi khuẩn *Kibdelosporangium aridum* và được tinh chế. Giai đoạn 2, chloroeremomycin được gắn thêm nhóm *p*-chlorophenylbenzyl trên đơn vị 4-*epi*-vancosamine.



Hình 5.6.12. Cấu trúc oritavancin

Oritavancin khác biệt với vancomycin ở đơn vị vancosamine của phần disaccharide được thay bằng 4-*epi*-vancosamine. Một đơn vị 4-*epi*-vancosamine thứ hai được thêm vào ở amino acid số 6. Quan trọng nhất là nhóm *p*-chlorophenylbenzyl thân dầu làm tăng khả năng kháng khuẩn trên cả chủng enterococci nhạy cảm và đề kháng với vancomycin (Hình 5.6.12). Điều này có nghĩa là oritavancin có khả năng ức chế vi khuẩn sản xuất tiền chất peptidoglycan có đuôi D-Ala-D-Lac. Một số cơ chế giải thích cho ưu thế này của oritavancin:

- Tương tự như các lipoglycopeptide khác, nhóm *p*-chlorophenylbenzyl thân dầu "thả neo" vào màng tế bào vi khuẩn làm tăng độ bền của phức hợp thuốc và lipid II.

- Do khả năng tương tác với màng tế bào vi khuẩn của nhóm *p*-chlorophenylbenzyl, oritavancin có thể làm xáo trộn tính thấm của màng tế bào, gây khử cực màng [20,21].

- Bên cạnh đuôi D-Ala-D-Ala/D-Lac, oritavancin có khả năng gắn với chuỗi peptidoglycan đang hình thành ở một số vị trí khác, làm tăng độ bền phức hợp và tăng khả năng ức chế phản ứng transglycosylation và transpeptidation [22,23].

Bảng 5.6.3. MIC_{90} của vancomycin và oritavancin trên một số chủng vi khuẩn [24,25]

Chủng vi khuẩn	**MIC_{90} (mg/L)**	
	Vancomycin	Oritavancin
MRSA	1	0.06
VRSA	> 512	0.5
S. pyogenes	0.5	0.25
E. faecium kháng vancomycin	≥ 64	0.06
C. difficile	0.5-2	0.06-1

Oritavancin chỉ cần truyền tĩnh mạch một liều 1200 mg (trong vòng 3 giờ) [26].

8. ỨNG DỤNG TRONG TRỊ LIỆU [7]

Nhiễm trùng da, mô mềm, xương, khớp.

Viêm phổi do MRSA.

Viêm màng não do *S. pneumonia* hay *Staphylococci* kháng methicillin.

Viêm màng trong tim hay nhiễm trùng catheter do vi khuẩn kháng β-lactam hay ở bệnh nhân dị ứng với β-lactam.

Viêm ruột màng giả gây ra bởi *C. difficile.*

Dự phòng phẫu thuật ở bệnh nhân dị ứng với β-lactam hoặc có nguy cơ nhiễm MRSA cao.

9. TÁC DỤNG PHỤ - ĐỘC TÍNH [7]

Phản ứng khi tiêm truyền

Khi truyền tĩnh mạch nhanh vancomycin có thể gây "hội chứng người đỏ" (red man syndrome) gồm các triệu chứng như nổi đỏ vùng mặt, cổ, ngứa, nhịp tim nhanh, hạ huyết áp. Đây không phải là phản ứng dị ứng mà là do tác động trực tiếp của vancomycin lên tế bào mast và gây giải phóng histamine. Các thuốc khác trong nhóm glycopeptide cũng có thể gây phản ứng tương tự nên đều phải được truyền tĩnh mạch chậm.

Phản ứng quá mẫn

Ít gặp hơn phản ứng khi tiêm truyền nhưng cần chú ý đối với các thuốc có thời gian bán thải dài như dalbavancin và oritavancin.

Độc tính trên thận

Tỷ lệ gây độc tính cấp trên thận của vancomycin tỷ lệ với nồng độ đáy (trough concentration, nồng độ thuốc nhỏ nhất trước khi dùng liều kế tiếp) và thời gian sử dụng. Chỉ gây độc tính tạm thời. Lưu ý nguy cơ độc trên thận tăng khi sử dụng chung với kháng sinh nhóm aminoglycoside [27].

Phần B - CÁC KHÁNG SINH CÓ CẤU TRÚC PEPTIDE KHÁC

1. KHÁNG SINH NHÓM POLYMYXIN

1.1. Giới thiệu

Polymyxin là nhóm các lipopeptide kháng khuẩn có nguồn gốc tự nhiên, trong đó polymyxin B và colistin (hay polymyxin E) được sử dụng trong lâm sàng. Năm 1947, colistin được sản xuất bởi vi khuẩn sống trong đất *Paenibacillus polymyxa* subsp. *colistinus*. Polymyxin B được sản xuất bởi *Bacillus polymyxa*. Các polymyxin được sử dụng trong lâm sàng để điều trị các bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn gram âm. Với độc tính cao, nhóm polymyxin được thay thế bởi các kháng sinh khác an toàn hơn.

Tuy nhiên, với tình trạng đề kháng kháng sinh ngày càng nghiêm trọng, colistin và polymyxin B quay trở lại thành biện pháp điều trị tuyến cuối cùng chống lại vi khuẩn đa đề kháng gram âm như *K. pneumoniae, A. baumannii* và *P. aeruginosa* [28,29].

1.2. Đặc điểm cấu trúc

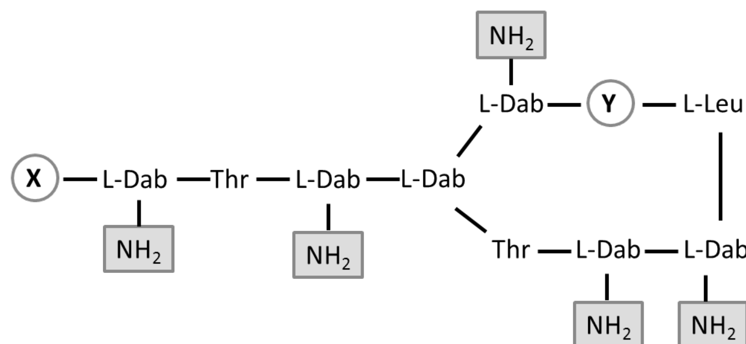
Polymyxin có cấu tạo chung gồm:

- Phần heptapeptide vòng. Giữa colistin và polymyxin B khác chỉ khác nhau ở một đơn vị amino acid (D-Leucine đối với colistin; D-Phenylalanine đối với polymyxin B).

- Phần mạch nhánh tripeptide.

- Đuôi acid béo ở đầu N của mạch nhánh (6-methyloctanoic acid đối với colistin A và polymyxin B1; 6-methyloctanoic acid đối với colistin B và polymyxin B2).

Các nhóm NH_2 tự do của các đơn vị (L)-diaminobutyric acid (L-Dab) được proton hóa thành NH_3^+ làm cho polymyxin tích điện dương (polycationic), đóng vai trò quan trọng trong cơ chế kháng khuẩn của thuốc.



Hình 5.6.13. Cấu trúc chung của kháng sinh polymyxin

Dab = diaminobutyric acid; Thr = threonine ; Leu = leucine; **X** = acid béo (6-methyloctanoic acid ở colistin A và polymyxin B1; 6-methylheptanoic acid ở colistin B và polymyxin B2); **Y** = D-leucine ở colistin và D-phenylalanine ở polymyxin B.

Colistin là hỗn hợp của colistin A (hay còn gọi là polymyxin E1) và colistin B (polymyxin E2), khác nhau ở độ dài đuôi acid béo. Polymyxin B là hỗn hợp của polymyxin B1-B4, trong đó polymyxin B1 và B2 chiếm phần lớn [28].

1.3. Tính chất lý hóa, bào chế, bảo quản và sử dụng [28,30,31]

Polymyxin B được bào chế dưới dạng muối sulfate, bột đông khô, sử dụng đường tiêm.

Colistin dưới dạng muối sulfate được sử dụng đường uống để diệt khuẩn đường tiêu hóa (không được hấp thu vào máu); hoặc dùng ngoài da để điều trị các bệnh nhiễm trùng da.

Nhằm giảm độc tính khi dùng đường tiêm, colistin được bào chế dạng tiền dược (prodrug)-**colistin methanesulfonate** (hay còn gọi là colistimethate, colistimethate sodium). Dạng tiền dược có các nhóm $-NH_2$ của colistin được gắn nhóm methanesulfonate tích điện âm nên làm mất hoạt tính kháng khuẩn, đồng thời làm giảm độc tính. Trong dung dịch và trong cơ thể, các nhóm methanesulfonate bị thủy phân, giải phóng colistin dạng tự do. Do đó, để tránh độc tính do colistin tự do, thuốc phải được bảo quản trong lọ kín, nơi khô ráo, tránh ẩm, và tiêm ngay khi pha thuốc.



1.4. Kiểm nghiệm [30,31]

- Định tính: Sắc ký lỏng, sắc ký lớp mỏng.

+ Colistin sulfate có các nhóm amine tự do nên có thể định tính bằng sắc ký lớp mỏng, hiện màu bằng ninhydrin.

+ Colistimethate sodium cần được thủy phân bằng đun nóng với dung dịch acid HCl trước khi thực hiện sắc ký lớp mỏng với chỉ thị ninhydrin.

+ Phản ứng Biuret: Polymyxin có các liên kết peptide tạo phức với Cu^{2+} có màu tím khi phản ứng với dung dịch NaOH và dung dịch $CuSO_4$.

+ Định tính ion sulfate.

+ Colistimethate sodium cho phản ứng của ion sodium; làm mất màu dung dịch iodine/trong acid HCl, dung dịch tạo thành cho phản ứng của ion sulfate (trong môi trường acid, iodine oxy hóa nhóm methansulfonate thành sulfate).

- Kiểm tinh khiết:

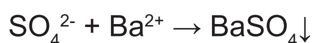
+ pH, năng suất quay cực, tạp liên quan;

+ Chế phẩm chứa colistimethate sodium cần được kiểm soát lượng colistin tự do để tránh độc tính khi sử dụng. Lượng colistin tự do (có các nhóm amine tự do) trong dung dịch được phát hiện bằng phản ứng với silicotungstic acid tạo kết tủa.

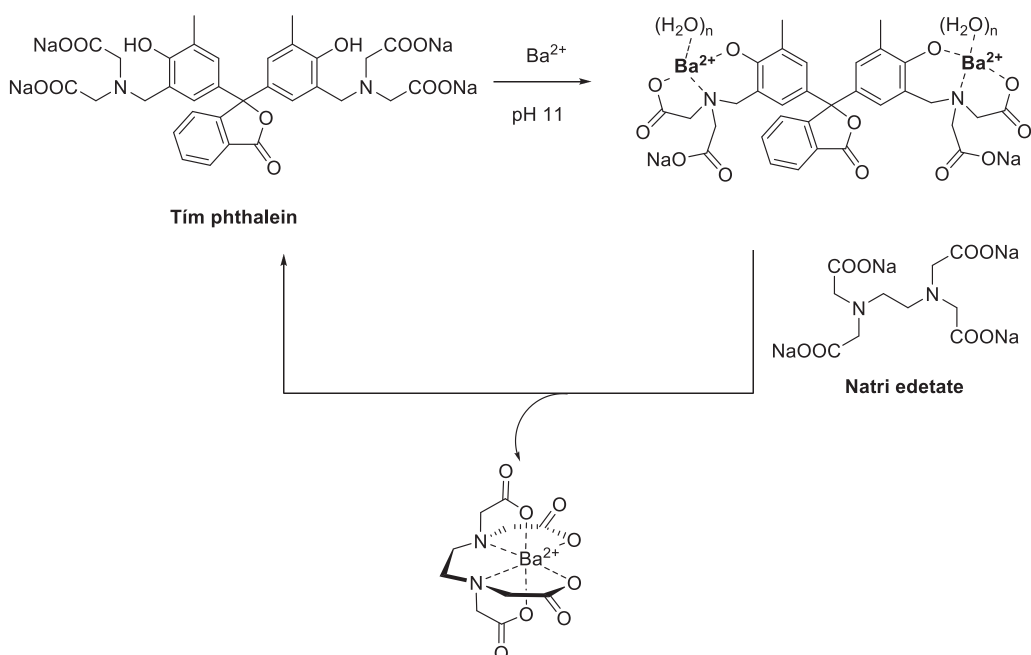
- Định lượng:

Định lượng bằng phương pháp vi sinh vật.

Định lượng hàm lượng sulfate trong chế phẩm colistin sulfate bằng phương pháp chuẩn độ lượng ion Ba^{2+} còn dư sau phản ứng của $BaCl_2$ với ion sulfate. Trong môi trường kiềm (ammonia pH 11), chỉ thị tím phtalein tạo phức màu xanh - tím với ion Ba^{2+} còn dư trong dung dịch. Chuẩn độ bằng natri edetate đến khi mất màu của chỉ thị (natri edetate tạo phức bền hơn với ion Ba^{2+}, trả lại tím phthalein dạng tự do) (Hình 5.6.14).



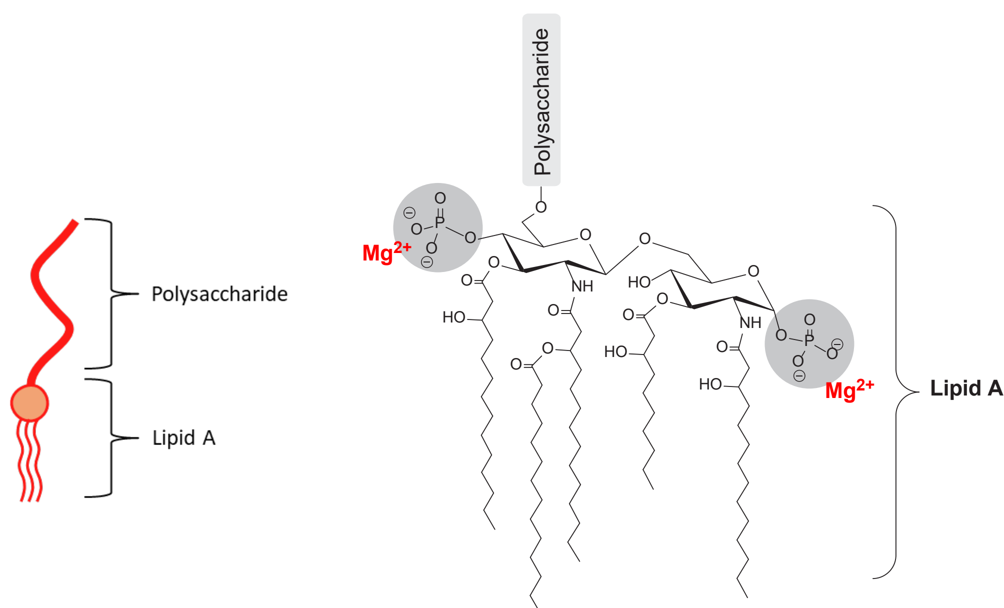
$$SO_4^{2-} + Ba^{2+} \rightarrow BaSO_4\downarrow$$



Hình 5.6.14. Cấu trúc phức hợp giữa Ba^{2+} với chỉ thị tím phthalein và natri edetate [32]

1.5. Cơ chế kháng khuẩn - phổ kháng khuẩn

Lipid A là một phần của lipopolysaccharide (LPS) của màng ngoài tế bào vi khuẩn gram âm (xem *cấu tạo thành tế bào vi khuẩn,* phần kháng sinh aminoglycoside). Lipid A có các nhóm phosphate tích điện âm, tạo liên kết tĩnh điện với các ion Mg^{2+} và Ca^{2+}. Hệ thống cầu muối này làm cho hệ thống LPS bền chặt (Hình 5.6.15).



Hình 5.6.15. Cấu trúc lipopolysaccharide (LPS)

Đích tác động của polymyxin là màng ngoài tế bào vi khuẩn gram âm. Các nhóm $–NH_3^+$ tích điện dương của polymyxin tương tác với các nhóm phosphate tích điện âm của lipid A trong cấu trúc của lipopolysaccharide (LPS), cạnh tranh với các ion Mg^{2+} và Ca^{2+}. Hậu quả là hệ thống cầu muối của LPS bị phá vỡ, làm tăng tính thấm của màng tế bào, gây vỡ tế bào.

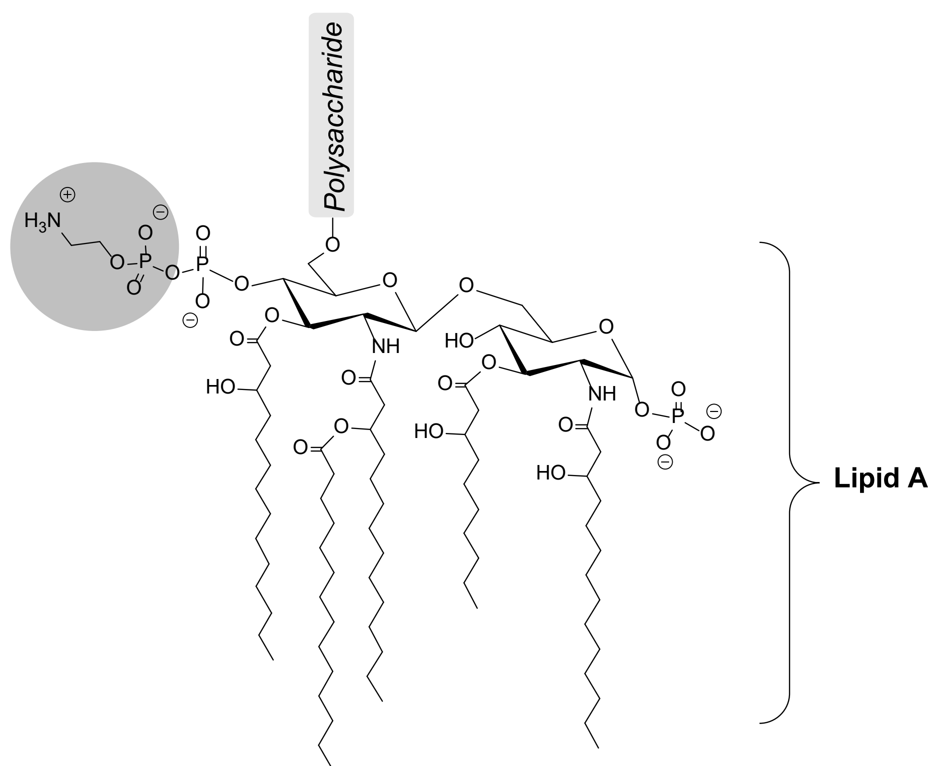
Polymyxin có phổ kháng khuẩn hẹp, có hoạt tính trên **vi khuẩn gram âm** (họ *Enterobacteriaceae như Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp.; *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*).

Các chủng không nhạy cảm với nhóm polymyxin là *Proteus* spp., *Morganella morganii*, *Providencia* spp., *Serratia marcescens*, *Pseudomonas mallei*, *Burkholderia cepacia*, *Chromobacterium* spp., *Edwardsiella* spp., *Brucella*, *Legionella*, *Campylobacter*, *Vibrio cholerae*, *Neisseria* spp., vi khuẩn gram dương và vi khuẩn kỵ khí [28].

1.6. Cơ chế đề kháng của vi khuẩn

Gene ***mcr-1*** gây đề kháng với colistin được phân lập từ vi khuẩn *Escherichia coli* ở động vật chăn nuôi ở Trung Quốc từ năm 2011 [33]. Gen *mcr-1* nằm trên plasmid nên có khả năng lan truyền cao thông qua cơ chế chuyển gen ngang (horizontal transfer). Đến năm 2016 đã lây lan đến khắp 5 châu lục ở cả động vật và con người. Trong đó Việt Nam là nước có tỷ lệ *E.coli* có gen *mcr-1* cao thứ hai trong 31 quốc gia được khảo sát, chỉ sau Trung Quốc [34].

Gen *mcr-1* mang thông tin di truyền của một enzyme: **phosphatidylethanolamine transferase,** có chức năng gắn ethanolamine lên nhóm phosphate của lipid A (Hình 5.6.16). Việc gắn nhóm ethanolamine (mang điện dương) làm giảm điện tích âm của lipid A, đồng nghĩa với làm giảm ái lực của lipid A với polymyxin. Hơn nữa, nhóm ethanolamine làm tăng tương tác tĩnh điện giữa các phân tử LPS nên làm tăng độ bền của màng lipid của vi khuẩn, chống lại sự xâm nhập của kháng sinh [35].



Hình 5.6.16. Sự thay đổi cấu trúc của lipid A do phosphatidylethanolamine transferase [36]

1.7. Ứng dụng trong trị liệu

Colistin (colistimethate) và polymyxin B là liệu pháp cuối cùng trong điều trị các bệnh nhiễm trùng do vi khuẩn gram âm đề kháng với các kháng sinh khác. Ví dụ như điều trị nhiễm trùng đường hô hấp ở bệnh nhân xơ nang (cystic fibrosis) gây ra bởi *P. aeruginosa* đa kháng thuốc [37].

1.8. Tác dụng phụ - độc tính [28]

Colistin có độc tính cao, cửa sổ điều trị hẹp. Các độc tính khi sử dụng đường tiêm là độc tính trên thận và độc tính trên thần kinh.

Độc tính trên thận

Là độc tính thường gặp nhất. Độc tính trên thận phụ thuộc vào liều (dose-dependent), và hầu hết đều có thể hồi phục.

Độc tính thần kinh

Rối loạn dẫn truyền thần kinh, dị cảm, chóng mặt, rối loạn thị giác, khó thở,… Độc tính thần kinh phụ thuộc vào liều và cũng có thể hồi phục.

2. DAPTOMYCIN

2.1. Giới thiệu

Daptomycin là kháng sinh có cấu trúc lipopeptide dạng vòng, được sản xuất bởi vi khuẩn *Streptomyces roseosporus* sống trong đất. Daptomycin là một trong số ít các kháng sinh mới được cấp phép lưu hành (2003) [38].

2.2. Đặc điểm cấu trúc - liên quan cấu trúc và tác dụng

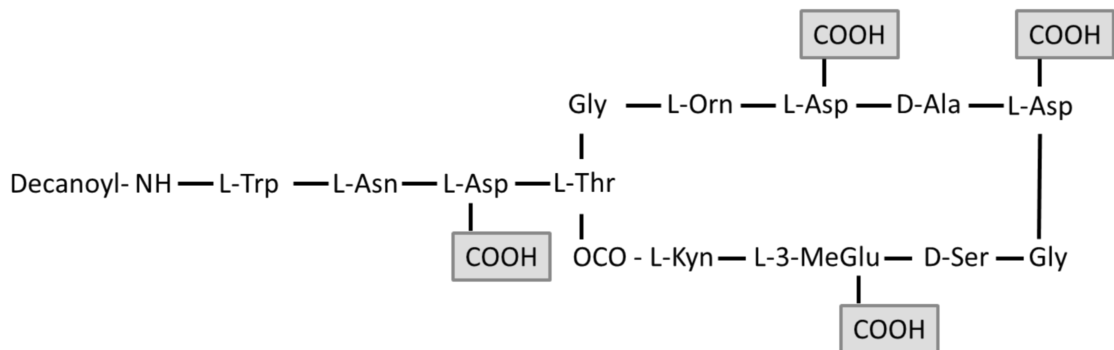
Daptomycin - một lipopeptide - có cấu tạo gồm 3 phần:

- Phần peptide vòng: 10 amino acid tạo thành vòng;

- 3 amino acid tạo thành chuỗi peptide mạch nhánh;

- Phần acid béo decanoyl gắn trên đầu N của mạch peptide nhánh (Hình 5.6.17).

Daptomycin có các nhóm carboxylate tích điện âm, tạo phức hợp với các ion Ca^{2+}. Việc tạo phức hợp oligomer [daptomycin-$(Ca^{2+})_n]_m$ mang tổng điện tích dương là cần thiết cho cơ chế kháng khuẩn.



Hình 5.6.17. Cấu trúc của daptomycin

Daptomycin có khả năng tạo phức hợp với Ca^{2+} nhờ các nhóm carboxylate tự do của các amino acid như 3-MeGlu và hai đơn vị Asp trong phần peptide vòng. Các thay đổi về cấu trúc ở các vị trí này, đặc biệt là chuỗi L-Asp-D-Ala-L-Asp-Gly, làm mất hoạt tính kháng khuẩn [38].

2.3. Cơ chế kháng khuẩn - phổ kháng khuẩn [38]

Cơ chế tác dụng của daptomycin khởi đầu bằng việc tạo phức hợp oligomer với ion Ca^{2+}. Phức hợp này nhằm vào lớp màng sinh chất của tế bào vi khuẩn gram dương. Tuy nhiên, hiện nay, cơ chế kháng khuẩn cụ thể và tương tác giữa daptomycin và màng tế bào vi khuẩn vẫn có nhiều giả thuyết khác nhau và còn nhiều tranh cãi.

Mặc dù cấu trúc lipopeptide vòng của daptomycin có điểm tương đồng với nhóm polymyxin, daptomycin có phổ tác động chủ yếu trên **vi khuẩn gram dương**, đặc biệt trên các chủng kháng thuốc như MRSA, VRSA, GRSA, VRE, coagulase negative *Staphylococcus*, *Streptococcus pneumonia* kháng penicillin,…

2.4. Cơ chế đề kháng của vi khuẩn [38]

Thay đổi điện tích của màng tế bào

Ở *S. aureus*, đột biến gen *mprF* mã hóa enzyme lysylphosphatidylglycerol (LPG) synthetase làm tăng tổng hợp phospholipid có lysine (có nhóm $-NH_3^+$ tích điện dương). Hậu quả là màng tế bào có bề mặt ngoài có nhiều điện tích dương hơn, tạo lực đẩy tĩnh điện với phức hợp daptomycin-calcium.

Thay đổi thành phần phospholipid của màng tế bào

Đột biến gen mã hóa các enzyme tham gia quá trình sinh tổng hợp phospholipid của màng tế bào vi khuẩn đã được phát hiện ở *S. aureus*. Việc thay đổi thành phần phospholipid làm thay đổi "tính thấm" của màng tế bào đối với daptomycin, ngăn daptomycin tương tác sâu vào trong màng tế bào.

2.5. Ứng dụng trong trị liệu [39]

Nhiễm trùng da và cấu trúc da

Daptomycin được chỉ định trong điều trị nhiễm trùng da và cấu trúc da gây ra bởi các chủng vi khuẩn gram dương nhạy cảm với thuốc: *S. aureus* (bao gồm cả MRSA), *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*, và *Enterococcus faecalis* (chỉ trên chủng nhạy cảm với vancomycin).

Nhiễm trùng huyết do S. aureus

Daptomycin được chỉ định trong điều trị nhiễm trùng huyết do *S. aureus* (bao gồm chủng nhạy cảm và đề kháng với methicillin), kể cả trên bệnh nhân viêm nội tâm mạc bên phải nhiễm khuẩn (right-sided infective endocarditis).

2.6. Tác dụng phụ - độc tính [39]

Mẫn cảm/sốc phản vệ, đau cơ; viêm phổi tăng bạch cầu ái toan, đau dây thần kinh ngoại biên; tiêu chảy do *C. difficile*, tăng chỉ số INR (International Normalized Ratio)/ kéo dài thời gian prothrombin.

Câu hỏi tự lượng giá

1. Giải thích cơ chế gây đề kháng của enzyme VanA đối với các kháng sinh nhóm glycopeptide?

2. Giải thích cơ chế tại sao các lipoglycopeptide có hoạt tính cao hơn vancomycin?

3. Gần đây xuất hiện các chủng vi khuẩn mang gen *mcr-1* giúp đề kháng với polymyxin, gen này mang thông tin di truyền của enzyme phosphatidylethanolamine transferase. Trình bày cơ chế gây đề kháng.

Danh mục từ viết tắt

GRSA: glycopeptide-resistant *Staphylococcus aureus*

INR: International Normalized Ratio

LPG: lysylphosphatidylglycerol

LPS: lipopolysaccharide

MRSA: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

PBP: Penicillin Binding Protein

VRSA: vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*

VRE: vancomycin-resistant enterococci

Tài liệu tham khảo

1. Levine DP. Vancomycin: A history. Clin Infect Dis. 2006 Jan; 42(suppl_1):S5-12.

2. Patrick GL. An introduction to medicinal chemistry. 5th ed. Oxford: Oxford University Press; 2013. Chapter 19, Antibacterial agents; pp.446-449.

3. Dược điển Việt Nam 5. Nhà xuất bản Y học; 2018.

4. Chugunov A, Pyrkova D, Nolde D, Polyansky A, Pentkovsky V, Efremov R. Lipid-II forms potential "landing terrain" for lantibiotics in simulated bacterial membrane. Sci Rep. 2013 Apr; 3(1678).

5. https://pdb101.rcsb.org/motm/192

6. Nitanai Y, Kikuchi T, Kakoi K, Hanamaki S, Fujisawa I, Aoki K. Crystal Structures of the Complexes between Vancomycin and Cell-Wall Precursor Analogs. J Mol Biol. 2009 Feb; 385(5):1422-1432.

7. MacDougall C. Protein Synthesis Inhibitors and Miscellaneous Antibacterial Agents. In: Brunton LL, Hilal-Dandan R, Knollmann BC, editors. Goodman&Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. 13th ed. United States: McGraw-Hill Education; 2018. pp.1059-1061.

8. Dhanda G, Sarkar P, Samaddar S, Haldar J. Battle against vancomycin-resistant bacteria: Recent developments in chemical strategies. J Med Chem. 2019 Nov; 62(7):3184-3205.

9. Healy VL, Lessard IAD, Roper DI, Knox JR, Walsh CT. Vancomycin resistance in enterococci: reprogramming of the D-Ala-D-Ala ligases in bacterial peptidoglycan biosynthesis. Chemistry & Biology. 2000 May; 7(5):R109-R119.

10. Roper DI, Huyton T, Vagin A, Dodson G. The molecular basis of vancomycin resistance in clinically relevant *Enterococci:* Crystal structure of d-alanyl-d-lactate ligase (VanA). Proc Natl Acad Sci USA. 2000 Aug; 97(16):8921-8925.

11. Leadbetter MR, Adams SM, Bazzini B, Fatheree PR, Karr DE, Krause KM et al. Hydrophobic vancomycin derivatives with improved ADME properties: discovery of telavancin (TD-6424). J Antibiot (Tokyo). 2004 May; 57(5):326-336.

12. Lunde CS, Hartouni SR, Janc JW, Mammen M, Humphrey PP, Benton BM. Telavancin disrupts the functional integrity of the bacterial membrane through targeted interaction with the cell wall precursor lipid II. Antimicrob Agents Chemother. 2009 Jul; 53(8):3375-3383.

13. Karlowsky JA, Nichol K, Zhanel GG. Telavancin: mechanisms of action, in vitro activity, and mechanisms of resistance. Clin Infect Dis. 2015 Sep; 61 Suppl 2:S58-S68.

14. AHFS Monographs, telavancin (https://www.drugs.com/monograph/telavancin.html), truy cập 08/01/2020.

15. Yushchuk O, Ostash B, Truman AW, Marinelli F, Fedorenk V. Teicoplanin biosynthesis: unraveling the interplay of structural, regulatory, and resistance genes. Appl Microbiol Biotechnol. 2020 Feb; 104:3279-3291.

16. Svetitsky S, Leibovici L, Paul M. Comparative efficacy and safety of vancomycin versus teicoplanin: systematic review and meta-analysis. Antimicrob Agents Chemother. 2009 Oct; 53(10):4069-4079.

17. Streit JM, Fritsche TR, Sader HS, Jones RN. Worldwide assessment of dalbavancin activity and spectrum against over 6,000 clinical isolates. Diagn Microbiol Infect Dis. 2004 Feb; 48(2):137-143.

18. Malabarba A, Goldstein BP. Origin, structure, and activity in vitro and in vivo of dalbavancin. J Antimicrob Chemother. 2005 Mar; 55 Suppl 2:ii15-20.

19. AHFS Monographs, dalbavancin (https://www.drugs.com/monograph/dalbavancin.html), truy cập 08/01/2020.
20. Allen NE, Nicas TI. Mechanism of action of oritavancin and related glycopeptide antibiotics. *FEMS Microbiol Rev*. 2003 Jan; 26(5); pp.511-532.
21. Zhanel GG, Schweizer F, Karlowsky JA. Oritavancin: Mechanism of Action. Clin Infect Dis. 2012 Apr; 54(suppl_3):S214-S219.
22. Kim SJ, Cegelski L, Stueber D, Singh M, Dietrich E, Tanaka KSE et al. Oritavancin exhibits dual mode of action to inhibit cell-wall biosynthesis in *Staphylococcus aureus*. J Mol Biol. 2008 Mar; 377(1):281-293.
23. Münch D, Engels I, Müller A, Reder-Christ K, Falkenstein-Paul H, Bierbaum G, Grein F, Bendas G, Sahl HG, Schneider T. Structural variations of the cell wall precursor lipid II and their influence on binding and activity of the lipoglycopeptide antibiotic oritavancin. Antimicrob Agents Chemother. 2015 Feb; 59(2):772-781.
24. Brade KD, Rybak JM, Rybak MJ. Oritavancin: A New Lipoglycopeptide Antibiotic in the Treatment of Gram-Positive Infections. Infect Dis Ther. 2016 Mar; 5(1):1-15.
25. Morrissey I, Seifert H, Canton R, Nordmann P, Stefani S, Macgowan A, Janes R, Knight D; Oritavancin Study Group. Activity of oritavancin against methicillin-resistant staphylococci, vancomycin-resistant enterococci and β-haemolytic streptococci collected from western European countries in 2011. J Antimicrob Chemother. 2013 Jan; 68(1):164-167.
26. AHFS Monographs, oritavancin (https://www.drugs.com/monograph/oritavancin.html), truy cập 08/01/2020).
27. Van Hal SJ, Paterson DL, Lodise TP. Systematic review and meta-analysis of vancomycin-induced nephrotoxicity associated with dosing schedules that maintain troughs between 15 and 20 milligrams per liter. Antimicrob Agents Chemother. 2013 Jan; 57(2):734-744.
28. Poirel L, Jayol A, Nordmann P. Polymyxins: antibacterial activity, susceptibility testing, and resistance mechanisms encoded by plasmids or chromosomes. Clin Microbiol Rev. 2017 Apr; 30(2):557-596.
29. Zavascki AP, Goldani LZ, Li J, Nation RL. Polymyxin B for the treatment of multidrug-resistant pathogens: a critical review. J Antimicrob Chemother. 2007 Dec; 60(6):1206-1215.
30. Dược điển châu Âu X (2020), chuyên luận colistimethate; colistin sulfate.
31. Dược điển Anh (2016), chuyên luận colistimethate; colistin sulfate.

32. El-Baradie KY, Fayed TM, El-Mehasseb IM. Synthesis and Properties of Mononuclear and Homobinuclear Chelates of Mn(II), Co(II), Ni(II), and Cu(II) with Phthalein Purple. Monatshefte fur Chemie. 2005 Mar; 136:1157-1169.

33. Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R, Spencer J, et al. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. Lancet Infect Dis. 2016 Feb; 16(2):161-168.

34. Wang R, van Dorp L, Shaw LP, Bradley P, Wang Q, Wang X, Jin L, Zhang Q, Liu Y, Rieux A, Dorai-Schneiders T, Weinert LA, Iqbal Z, Didelot X, Wang H, Balloux F. The global distribution and spread of the mobilized colistin resistance gene mcr-1. Nat Commun. 2018 Mar; 9(1):1179.

35. Khondker A., Rheinstädter MC. How do bacterial membranes resist polymyxin antibiotics? *Commun Biol*. 2020 Feb; 3(77):1-4.

36. Liu YY, Chandler CE, Leung LM, McElheny CL, Mettus RT, Shanks RMQ, et al. Structural Modification of Lipopolysaccharide Conferred by *mcr-1* in Gram-Negative ESKAPE Pathogens. Antimicrob Agents Chemother. 2017 May 24; 61(6):e00580-17.

37. AHFS Monographs, colistimethate (https://www.drugs.com/monograph/colistimethate.html), truy cập 13/03/2021.

38. Karas JA, Carter GP, Howden BP, Turner AM, Paulin OKA, Swarbrick JD, Baker MA, Li J, Velkov T. Structure-Activity Relationships of Daptomycin Lipopeptides. J Med Chem. 2020 Nov; 63(22):13266-90.

39. CUBICIN (daptomycin) Label - FDA (https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2017/021572s059lbl.pdf).

5.7. NHÓM MACROLIDE VÀ LINCOSAMIDE

Các hoạt chất được đề cập

Kháng sinh họ macrolide

Erythromycin	Roxithromycin	Solithromycin
Clarithromycin	Azithromycin	Spiramycin
Dirithromycin	Telithromycin	Fidaxomicin

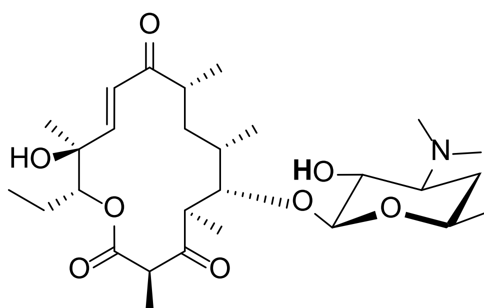
Kháng sinh họ lincosamide

Lincomycin
Clindamycin

A. KHÁNG SINH HỌ MACROLIDE

1. GIỚI THIỆU

Macrolide đầu tiên được ly trích là pikromycin bởi Brockmann và cộng sự năm 1950. Thuật ngữ "macrolide" được R. B. Woodward đề xuất đầu tiên năm 1957 [1]. Các macrolide được đặc trưng bởi một vòng lactone lớn ("macro": lớn; "olide": lactone) 12, 14, hoặc 16 nguyên tử, trên vòng có những nhóm thế hydroxyl, methyl và ethyl cũng như các nhóm chức carbonyl. Một, hai hoặc đôi khi ba nhóm hydroxyl được glycosyl hóa với nhóm đường, thường là đường cladinose và desoxamine. Tất cả các macrolide thiên nhiên có được từ sự lên men chủ yếu từ *Streptomyces* spp. Sự khác nhau về cấu trúc của các macrolide liên quan đến kích thước của vòng lactone và bản chất (trung tính hay base) của đường.



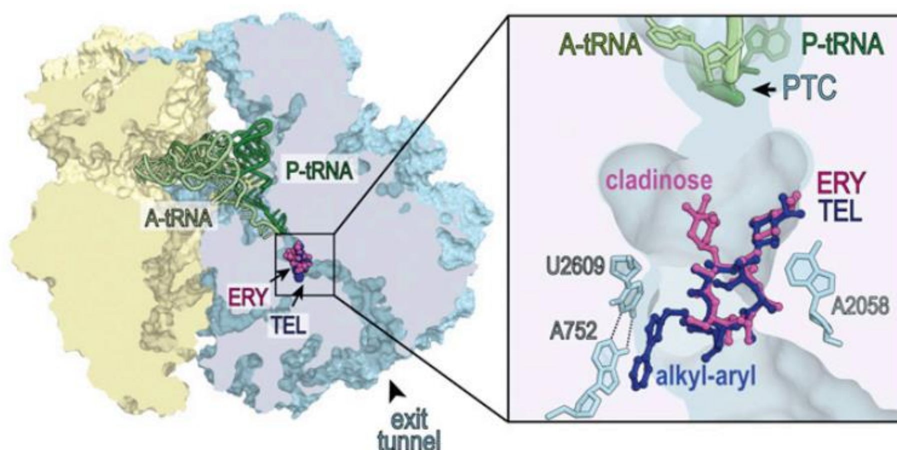
Hình 5.7.1. Pikromycin

Macrolide được sử dụng phổ biến là erythromycin (thiên nhiên) và một số macrolide bán tổng hợp như clarithromycin, roxythromycin, telithromycin và azithromycin.

2. CƠ CHẾ TÁC DỤNG

Ribosome vi khuẩn gồm 2 tiểu đơn vị 30S và 50S, mỗi tiểu đơn vị được cấu thành bởi RNA của ribosome (rRNA) và các protein. Tiểu đơn vị 50S có chứa trung tâm peptidyl transferase (PTC), trung tâm này xúc tác việc hình thành liên kết peptide, liên kết các amino acid để tạo thành chuỗi polypeptide, hình thành protein mới.

Macrolide, ketolide, lincosamide và streptogramin nhóm B gắn vào cùng một vị trí trên tiểu đơn vị 50S - nơi đi ra của chuỗi peptide mới hình thành (exit tunnel), kề bên PTC. Các kháng sinh này tương tác với các nucleotide của rRNA 23S và chặn sự kéo dài chuỗi peptide (Hình 5.7.2) và thể hiện tác động kháng khuẩn bằng cách ngăn chặn sự sinh tổng hợp protein [2,26].



Hình 5.7.2. Vị trí gắn kết của erythromycin (ERY) và telithromycin (TEL) trên tiểu đơn vị 50S [2]

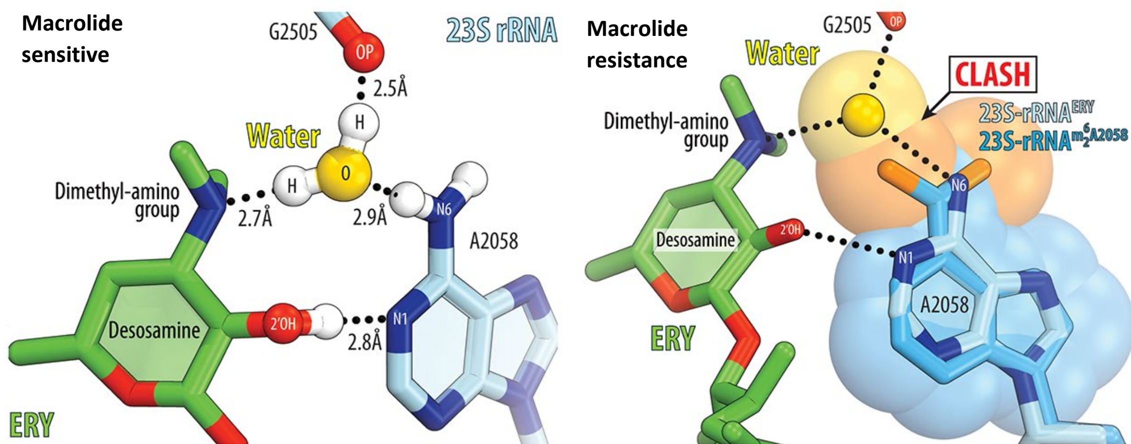
Ở liều bình thường, các kháng sinh có cơ chế tác dụng ức chế sinh tổng hợp protein vi khuẩn không can thiệp vào chức năng của những phần tử thuộc ribosome 80S eukaryote (tế bào người và động vật).

3. CƠ CHẾ ĐỀ KHÁNG

- Enzyme thay đổi cấu trúc ribosome

Vi khuẩn phát triển sự đề kháng macrolide do sản xuất những rRNA methyltransferase, phổ biến nhất là nhóm Erm methyltransferase. Các enzyme này methyl hóa nhóm NH_2 của adenine vị trí 2058 của rRNA 23S. Nhóm NH_2 này tham gia liên kết hydro với nhóm dimethylamino của desosamine, thông qua trung gian một phân tử nước (Hình 5.7.3).

Điều này mặc dù làm cho chúng kém hiệu quả trong quá trình sinh tổng hợp protein nhưng gây cản trở việc gắn kết với macrolide. Vi sinh vật trong đất sản xuất erythromycin sử dụng cùng kỹ thuật methyl hóa ribosome để bảo vệ chúng khỏi độc tính của chất chuyển hóa của chính nó. Methyl hóa một nhóm gây đề kháng mức độ thấp - trung bình, trong khi gắn hai nhóm methyl gây đề kháng cao.



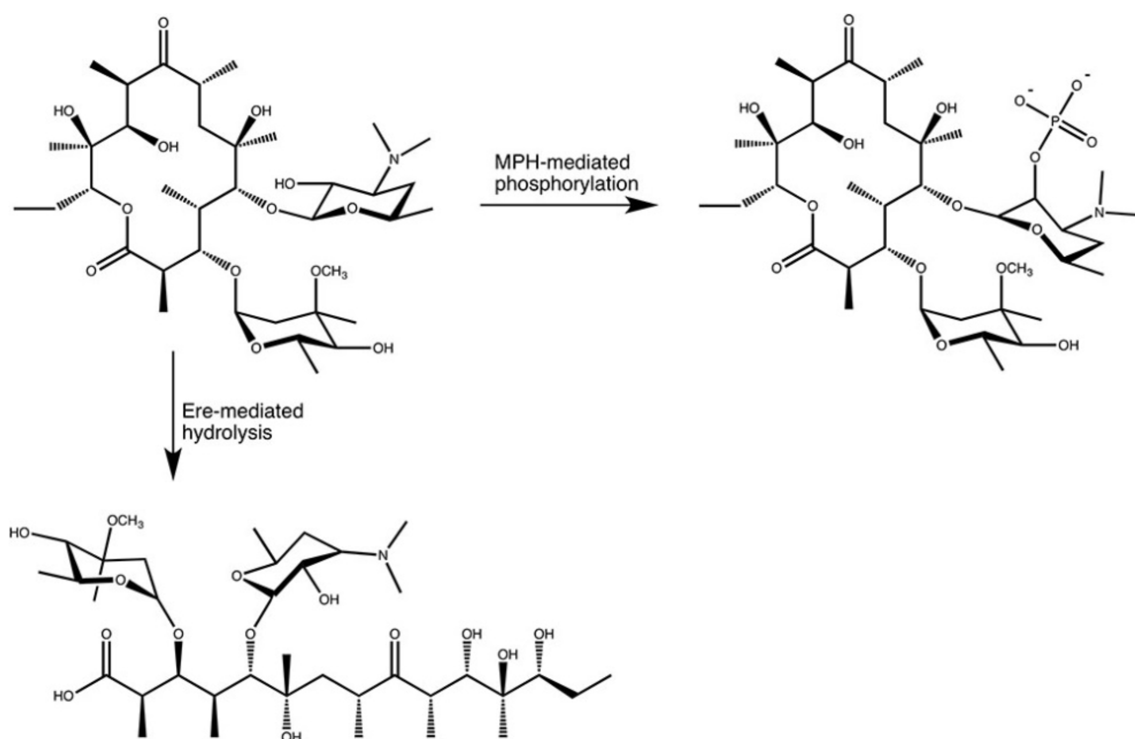
Hình 5.7.3. Cơ chế đề kháng do sự methyl hóa A2058, phá vỡ liên kết hydro với desosamine [3]

- *Đột biến thay đổi cấu trúc ribosome*

Là cơ chế đề kháng thứ hai đi kèm với sự đột biến của adenine thành guanine tại A2058. Việc thay đổi này đưa đến sự giảm 10.000 lần khả năng gắn kết của erythromycin và clarithromycin trên rRNA 23S. Nhiều vị trí đột biến khác trên rRNA cũng như trên protein cấu thành ribosome đã được ghi nhận [4].

- *Enzyme bất hoạt thuốc*

Enzyme bất hoạt thuốc được chia làm hai nhóm: macrolide phosphotransferase (MPH) và macrolide esterase (Ere) (Hình 5.7.4). Các MPH gắn nhóm phosphate lên vị trí số 2 của desosamine; Ere thủy phân liên kết ester (lactone) của vòng macrolide [5,6].



Hình 5.7.4. Cơ chế bất hoạt macrolide của MPH và Ere [6]

- *Bơm kháng thuốc (Bơm ngược)*

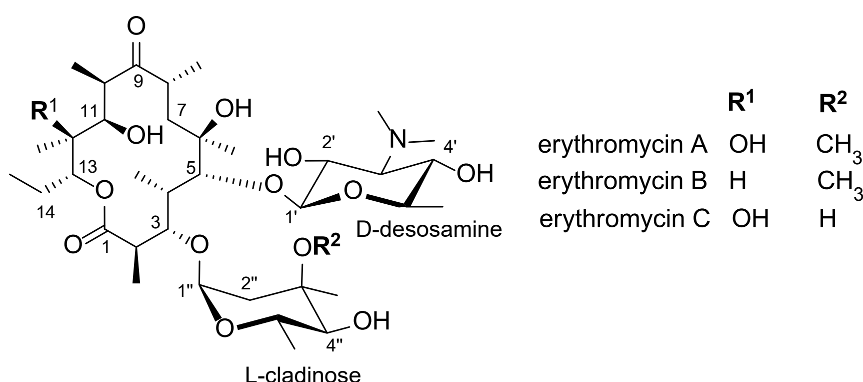
- *Protein bảo vệ ribosome* (tương tự như cơ chế đề kháng tetracycline)

Sự đề kháng tự nhiên với vi khuẩn gram âm chủ yếu do sự thiếu tính thấm của thuốc vào tế bào vi khuẩn vì những ribosome tách rời khỏi vi sinh vật này thường nhạy cảm với macrolide.

4. CÁC THUỐC TRONG NHÓM

4.1. Macrolide có vòng lactone chứa 14 nguyên tử

4.1.1. Erythromycin



Hình 5.7.5. Cấu trúc erythromycin A, B, C

4.1.1.1. Cấu trúc, tính chất lý hóa và dạng bào chế

Erythromycin là hỗn hợp kháng sinh macrolide được sản xuất từ *Saccharopolyspora erythrea,* thành phần chính là erythromycin A. Theo Dược điển Anh (BP) 36, thành phần erythromycin B và C chiếm không quá 5% mỗi hợp chất. Tinh thể không màu, hay màu vàng nhạt.

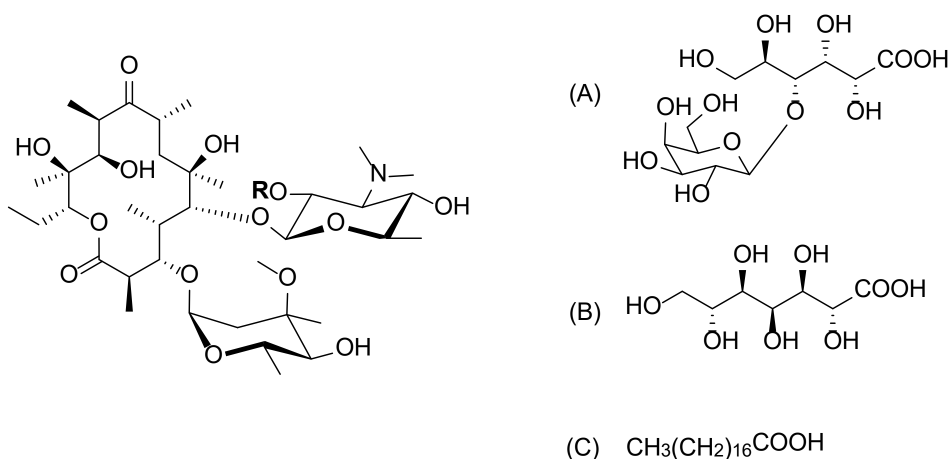
D-desoxamine mang chức amine nên các macrolide có tính base yếu (pKa #8).

- Erythromycin (dạng base): khó tan trong nước, dùng bào chế viên nang, viên nén kháng acid dạ dày; lotion erythromycin và kẽm acetate.

- Erythromycin ethyl succinate: Là một tiền dược, trong đó một chức COOH của succinic acid được ester hóa với nhóm C2’-OH của erythromycin. Tiền dược này thường dùng dưới dạng hỗn dịch uống trong nhi khoa do vị đắng được che giấu và ở dạng viên nén. Vài trường hợp vàng da, ứ mật đi kèm với việc sử dụng erythromycin ethyl succinate.

- Erythromycin stearate là muối rất khó tan của erythromycin. Tính không tan trong nước này giúp che giấu vị đắng của thuốc và gia tăng tính bền trong dạ dày. Được sử dụng ở dạng viên nén.

- Erythromycin lactobionate và erythromycin glucoheptonate là muối tan trong nước được dùng ở dạng tiêm truyền.



	R	Muối
Erythromycin (base)	H	
Erythromycin ethylsuccinate	$CO(CH_2)_2CO_2C_2H_5$	
Erythromycin lactobionate	H	(A)
Erythromycin glucoheptonate	H	(B)
Erythromycin stearate	H	(C)

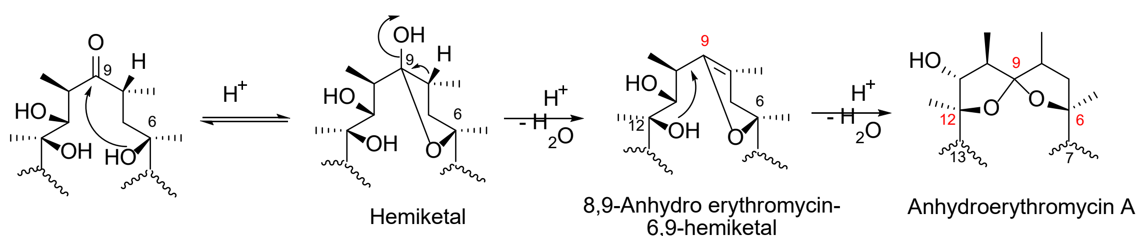
Hình 5.7.6. Các dạng muối của erythromycin A

Kết tinh từ nước thu được erythromycin A dạng monohydrate, dạng này chảy ở 135-140 °C; tiếp tục đun, mẫu tan chảy rắn lại và thể hiện điểm chảy thứ hai tại 190 - 193 °C.

UV λ_{max} = 288 nm (methanol)

Tính không bền của erythromycin phụ thuộc vào pH và nhiệt độ, pH tối ưu là 8.5. Ở pH 7 và 25 °C mất 14% hoạt tính sau 24 giờ. Trong môi trường acid yếu, sự mất hoạt tính xảy ra sau vài giờ.

Erythromycin không bền trong môi trường acid (pH 2.5-4) do sự tạo thành một cầu oxygen giữa nhóm ketone ở vị trí số 9 và nhóm hydroxyl ở vị trí số 6 tạo dẫn chất hemiketal. Sản phẩm này tiếp tục bị mất 1 phân tử H_2O để tạo thành anhydrohemiketal (8,9-anhydro erythromycin-6,9-hemiketal). Anhydrohemiketal này tiếp tục tạo thành anhydroerythromycin, một acetal tạo thành bởi liên kết “glycoside” nội phân tử (Hình 5.7.7). Các sản phẩm phân hủy này không có hoạt tính kháng khuẩn, nhưng tương tác như chất chủ vận thụ thể motilin, một hormone peptide nội sinh kiểm soát nhu động ruột, ở liều 3-10 lần thấp hơn erythromycin A, gây nhiều tác dụng phụ trên dạ dày ruột [1]. Để giảm việc phân hủy trong môi trường acid của dạ dày, erythromycin được dùng ở dạng viên bao kháng acid hoặc chuyển đổi hóa học thành dạng erythromycin ethylsuccinate và erythromycin stearate.



Hình 5.7.7. Sản phẩm phân hủy của erythromycin A trong môi trường acid [7]

4.1.1.2. Kiểm nghiệm

- Định tính

+ Phổ IR.

+ Sắc ký lớp mỏng so với erythromycin A và spiramycin chuẩn đối chiếu; phát hiện bằng anisaldehyde/H_2SO_4 ở 110 °C: Erythromycin cho màu nâu xám hơi xanh lá (greenish grey brown); spiramycin cho màu tím xám xanh dương (blue grey-violet) [8].

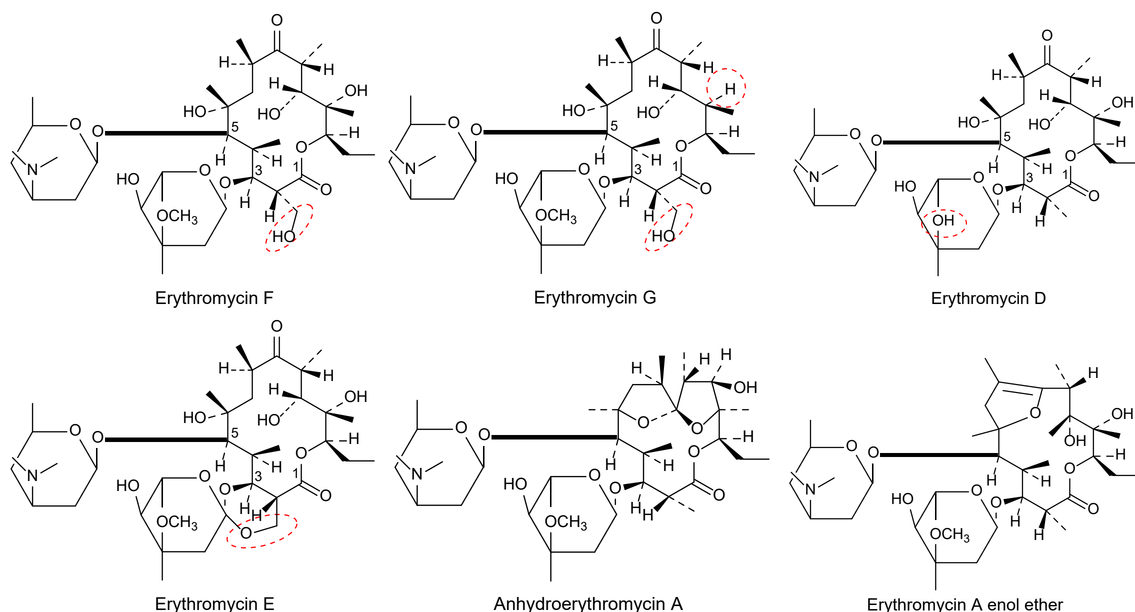
+ Dung dịch erythromycin A trong acetone với acid HCl 36% cho màu cam, chuyển thành tủa đỏ đến tím.

+ Phần đường desoxy được phát hiện bằng phương pháp Pesez: Đun erythromycin A với xanthydrol trong acetic acid băng với acid HCl 1% cho màu đỏ (UV λ_{max} = 530 nm) [8].

- Kiểm tinh khiết

+ Góc quay cực riêng: -71° đến -78° (dung dịch 2% trong ethanol).

+ Tạp liên quan:

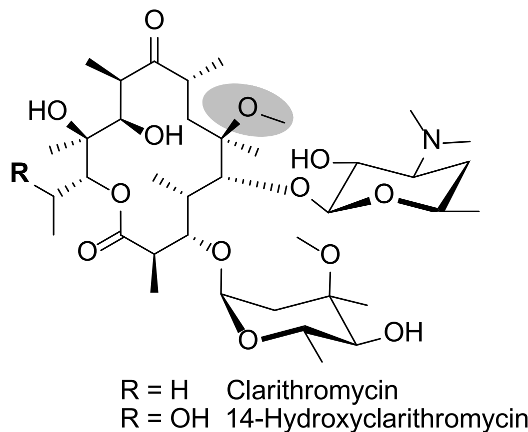


Hình 5.7.8. Một số tạp liên quan của erythromycin A (BP 2018)

- *Định lượng:* Phương pháp sắc ký lỏng; phương pháp vi sinh vật.

4.1.2. Macrolide bán tổng hợp thế hệ thứ nhất

Nhiều thay đổi trên cấu trúc của erythromycin để cho ra các macrolide bán tổng hợp nhằm cải thiện dược động học, tăng tính bền trong môi trường acid dạ dày, cải thiện sinh khả dụng và mở rộng phổ kháng khuẩn.

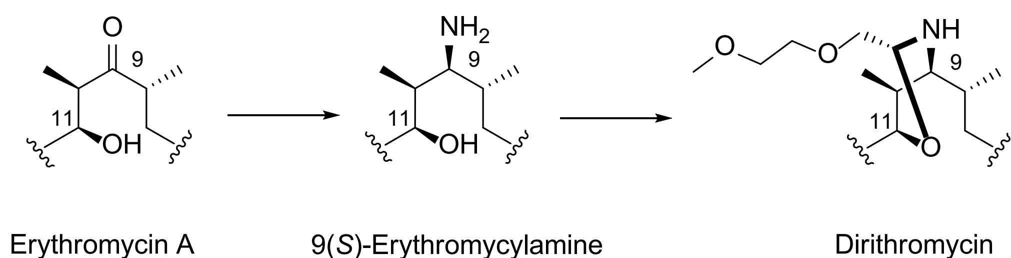


Hình 5.7.9. Clarithromycin và 14-hydroxyclarithromycin

- Clarithromycin: Khóa OH ở vị trí C6 của erythromycin A bằng cách methyl hóa (Hình 5.7.9). Sự thay đổi này ngăn cản việc tạo thành hemiketal nội phân tử, đồng thời làm cho phân tử thân lipid hơn, điều này không những giúp cho nồng độ trong máu cao nhờ vững bền về mặt hóa học, được sử dụng ở liều thấp hơn so với erythromycin, mà còn ít gây kích ứng dạ dày hơn. Sự chuyển hóa bước đầu tại gan của clarithromycin có thể tạo dẫn chất 14-hydroxy, chất này có hoạt tính kháng khuẩn tốt hơn, đặc biệt trên *Haemophilus influenzae* [7].

- Dirithromycin: Nhiều biến đổi ở vị trí số 9 được thực hiện để ngăn chặn sự hình thành hemiketal trong môi trường acid. Hợp chất 9(*S*)-erythromycylamine là một dẫn xuất của erythromycin, nhóm 9-keto được thay bằng nhóm 9-NH_2. Mặc dù erythromycylamine bền hơn trong môi trường acid và có hoạt tính kháng khuẩn tương tự erythromycin A, nhưng hấp thu bằng đường uống kém. Việc đưa vào erythromycylamine cấu trúc vòng 9-*N*-11-*O*-oxazine tạo ra dirithromycin (Hình 5.7.10).

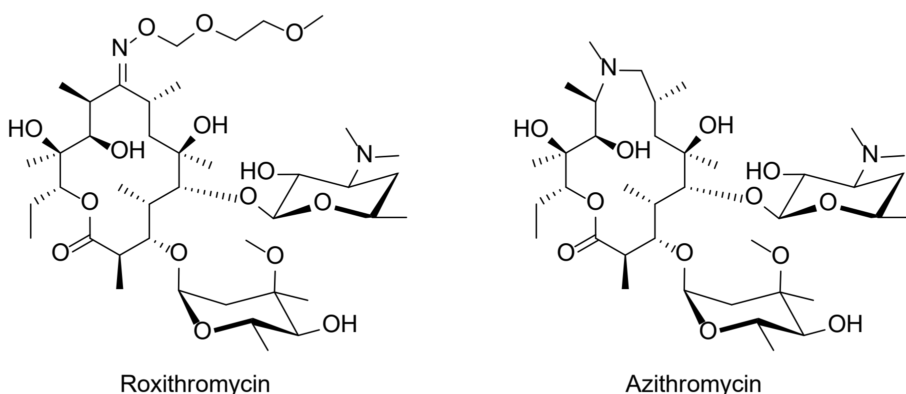
Dirithromycin thân lipid hơn erythromycin (nhờ có mạch nhánh thân lipid) nên có sinh khả dụng đường uống tốt hơn, thể tích phân bố lớn và khả năng thấm vào mô tốt hơn.



Hình 5.7.10. Cấu trúc của 9(*S*)-erythromycylamine và dirithromycin

Kết quả nghiên cứu cho thấy dirithromycin có khả năng ức chế tổng hợp protein của vi khuẩn cao gấp đôi erythromycin (IC_{50} lần lượt là 0.19 và 0.32 μM), do mạch nhánh (2-methoxyethoxy)methyl chặn lối ra (exit tunnel) của mạch peptide mới hình thành [10,11].

- Roxithromycin: Việc tạo dẫn chất ether oxime cho ra đời roxithromycin. Hợp chất này bền trong môi trường acid, có sinh khả dụng đường uống tốt (50% liều sử dụng), $T_{1/2}$ dài hơn (khoảng 12 giờ).

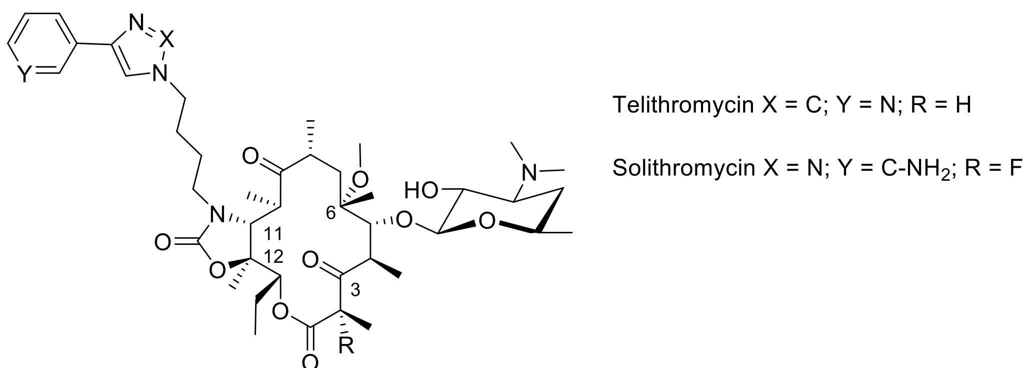


Hình 5.7.11. Roxithromycin và azithromycin

- Azithromycin: Thuộc nhóm aza-macrolide (hay azalide), một dẫn xuất của erythromycin trong đó vòng lactone được mở rộng do một nhóm *N*-methyl được chèn vào giữa C9 và C10. C9 không còn nhóm ketone nên không tạo được ketal nội. Azithromycin không những bền hơn trong môi trường acid, mà còn có $T_{1/2}$ dài hơn đáng kể, góp phần làm cho phân tử này ngấm vào mô nhiều hơn và kéo dài hơn, cho phép sử dụng 1 lần/ngày. Azithromycin có hoạt phổ rộng hơn erythromycin và clarithromycin trên vi khuẩn gram âm *(H. influenzae)* nhưng kém hơn trên vi khuẩn gram dương [12].

4.1.3. Macrolide bán tổng hợp thế hệ thứ 2 (Ketolide)

Trong nỗ lực làm giảm tác dụng phụ và mở rộng phổ kháng khuẩn của các kháng sinh macrolide, ketolide là nhóm tác nhân được đặc trưng bởi sự loại bỏ nhóm L-cladinose tại C3 và thay thế bằng nhóm ketone. Nhóm này có tác dụng chống lại một số vi khuẩn đề kháng erythromycin. Telithromycin được FDA cấp phép lưu hành năm 2004, nhưng do có độc tính cao, hãng Sanofi-Aventis đã quyết định ngưng sản xuất từ năm 2018 [13]. Một ketolide mới là solithromycin đang được thử nghiệm lâm sàng.



Hình 5.7.12. Cấu trúc của telithromycin và solithromycin

Ba đặc điểm cấu trúc phân biệt ketolide với macrolide:

(1) *Sự hiện diện của chức 3-keto thay vì đường L-cladinose*. Phần đường này trước đây được cho là quan trọng đối với tác dụng kháng khuẩn của erythromycin. Điều này đúng về nguyên tắc, tuy nhiên sự mất đường cladinose có thể được bù nhiều hơn bởi việc tạo dẫn xuất ở các vị trí khác của vòng lactone, đặc biệt tại C11 và C12. Ngoài ra sự thay thế cladinose bằng một nhóm 3-keto làm cải thiện hoạt tính trên những chủng vi khuẩn đề kháng erythromycin do khả năng của ketolide tránh được sự đề kháng của những chủng đề kháng MLS_B (macrolide-lincosamide-streptogramine group B) [14,19,27].

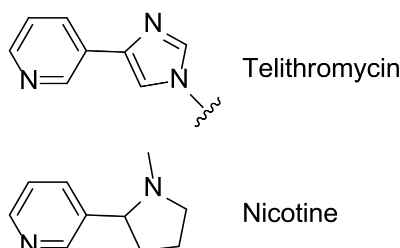
(2) *Nhóm OH tại C6 được thay bằng nhóm methoxy* (như trong trường hợp clarithromycin). Kết hợp với 3-keto, điều này ngăn cản việc tạo thành dẫn chất hemiketal nội và làm cho phân tử ketolide rất bền với acid (và vì vậy bền trong dạ dày ruột) so với macrolide. Cả clarithromycin và azithromycin bị bất hoạt hoàn toàn sau 1 giờ ở pH = 1 *in vitro*, còn erythromycin A bị bất hoạt rất nhanh ở điều kiện này. Trong khi đó telithromycin vẫn duy trì hoạt tính đầy đủ dưới điều kiện này sau 4 giờ [15].

(3) *Việc đưa vào C11/C12 một nhóm carbamate N thế cồng kềnh* (gọi là nhánh alkyl-aryl) chịu trách nhiệm gia tăng ái lực gắn với ribosome và đóng góp vào tương tác được cải thiện của telithromycin và solithromycin với MLS_B so với erythromycin A và các macrolide bán tổng hợp thế hệ thứ nhất.

Ngoài ra, trong khi các macrolide thế hệ trước có tính kìm khuẩn, telithromycin và solithromycin có tính diệt khuẩn. Đặc điểm này được giải thích là nhờ mạch nhánh alkyl-aryl, làm kéo dài thời gian gắn kết của ketolide lên ribosome. Sự ức chế tổng hợp protein kéo dài này, dần dần làm cạn kiệt các protein cần thiết cho quá trình phiên mã, dịch mã, dẫn đến hậu quả là tế bào vi khuẩn mất hoàn toàn khả năng sinh trưởng [16].

Telithromycin: Hiệu quả đường uống trong điều trị viêm phổi mắc phải trong cộng đồng, viêm xoang cấp. Lợi điểm chính của telithromycin là chống lại những nhiễm trùng vi khuẩn đề kháng erythromycin và các dẫn xuất bán tổng hợp thế hệ 1 thông qua cơ chế methyl hóa.

Chú ý độc tính trên gan (có thể gây suy gan cấp), rối loạn thị lực, làm nặng tình trạng nhược cơ, ngất xỉu (syncope). Độc tính của telithromycin được giải thích là do phần pyridine-imidazole của phân tử có cấu trúc tương tự nicotine (Hình 5.7.13), do đó có tác động đối vận trên thụ thể acetylcholine nicotinic (nicotinic acetylcholine receptor, nAChR). Người ta thấy rằng các ketolide không chứa nhân pyridine thì không xuất hiện các độc tính như trên [17,20,28].



Hình 5.7.13. Sự tương đồng về cấu trúc giữa mạch nhánh của telithromycin và nicotine

Solithromycin: Là một macrolide mới, chất đầu tiên thuộc cấu trúc fluoroketolide đang được phát triển để điều trị viêm phổi do vi khuẩn mắc phải trong cộng đồng với hoạt tính chống lại vi khuẩn đề kháng macrolide thế hệ trước (erythromycin, azithromycin,…) và cả vi khuẩn mang gen đề kháng telithromycin [18].

Về mặt cấu trúc, solithromycin có một số cải thiện so với telithromycin như:

+ Vòng triazole bền hơn về mặt chuyển hóa so với vòng imidazole (bị thủy phân *in vivo*).

+ Không chứa nhân pyridine nên được cho là không gây độc tính như telithromycin.

+ Fluoro gắn trên C2 tham gia tương tác với ribosome, đồng thời ngăn tạo thành dạng enol của nhóm 3-keto, làm giảm khả năng gắn kết với ribosome [20].

4.1.4. Quan hệ cấu trúc - tác dụng

- Chức lactone rất cần thiết, mở vòng macrolide mất tác dụng [4,5].

- Tầm quan trọng của việc định hướng trong không gian của các nhóm thân nước (carbonyl-lactone, carbonyl-ketone, hydroxyl ở vị trí 6 và 11) và những nhóm kỵ nước (methyl ở C4, C8 và C12, ethyl ở vị trí 13) của aglycone và đường desoxamine đóng vai trò quan trọng trong việc gắn kết với rRNA qua trung gian của nhóm hydroxyl ở vị trí C2′ và nhóm dimethylamino ở C3′ [1].

- Nhiệt độ nóng: Có thể dehydrate hóa ở C10-C11 hạn chế tác dụng.

- Nhóm hydroxyl ở C6 và ketone ở C9 tham gia phản ứng tạo hemiketal trong môi trường acid. Methyl hóa nhóm 6-OH và thay đổi nhóm ketone tạo nên các macrolide bền với acid.

4.2. Macrolide có vòng lactone chứa 16 nguyên tử (Spiramycin)

4.2.1. Cấu trúc

Spiramycin, bao gồm spiramycin I-IV (khác nhau ở nhóm thế vị trí số 3), được ly trích từ *Streptomyces ambofaciens;* cấu trúc có 1 vòng lactone 16 nguyên tử, liên kết glycoside tại vị trí số 9 với forosamine và tại vị trí số 5 với 1 disaccharide cấu tạo bởi D-mycaminose và L-mycarose; ở vị trí số 6 của nhân lactone có nhóm aldehyde (Hình 5.7.14).

4.2.2. Tính chất

- Bột trắng đến vàng nhạt, ít tan trong nước, dễ tan trong acetone, methanol và ethanol. Spiramycin tương đối bền với ánh sáng và tác động của oxygen. Dạng muối spiramycin adipate dễ tan được sử dụng bằng đường tiêm.

- Spiramycin bền hơn nhiều so với erythromycin A trong môi trường acid. Trong những điều kiện rất acid, spiramycin bị gãy đường L-mycarose và tạo ra các neospiramycin, các chất này có hoạt tính mạnh hơn spiramycin *in vitro*, nhưng không hoạt tính *in vivo*.

4.2.3. Kiểm nghiệm

- *Định tính:*

+ Phổ UV-vis: Hệ *s-trans* diene trong spiramycin hấp thu ở 232 nm (ethanol).

+ Sắc ký lớp mỏng với chất đối chiếu là spiramycin và erythromycin phát hiện bằng anisaldehyde/H_2SO_4 ở 110 °C.

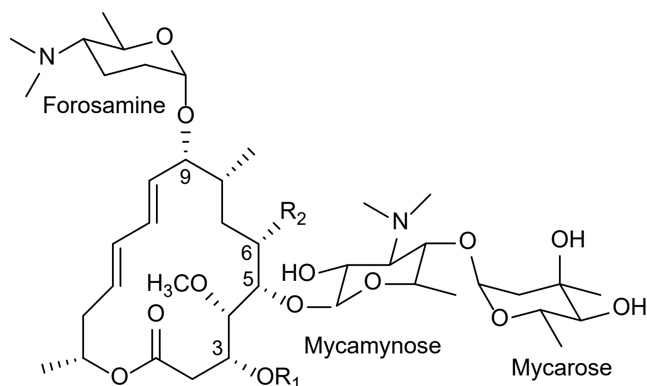
+ Spiramycin được hòa tan dưới dạng muối sulfate và cho màu nâu với sulfuric acid đậm đặc điển hình của macrolide.

- *Kiểm tinh khiết*

+ pH, năng suất quay cực.

+ Tạp liên quan: Neospiramycin I, II, III; spiramycin IV, spiramycin V.

- *Định lượng:* phương pháp thử vi sinh vật.



	R_1	R_2	Mycarose
Spiramycin I	H	CH_2CHO	+
Spiramycin II	$COCH_3$	CH_2CHO	+
Spiramycin III	$COCH_2CH_3$	CH_2CHO	+
Spiramycin IV	H	CH_2CH_2CHO	+
Neospiramycin I	H	CH_2CHO	-
Neospiramycin II	$COCH_3$	CH_2CHO	-
Neospiramycin III	$COCH_2CH_3$	$COCH_2CH_3$	-
18-Deoxy-18-dihydrospiramycin	H	CH_2CH_3	+

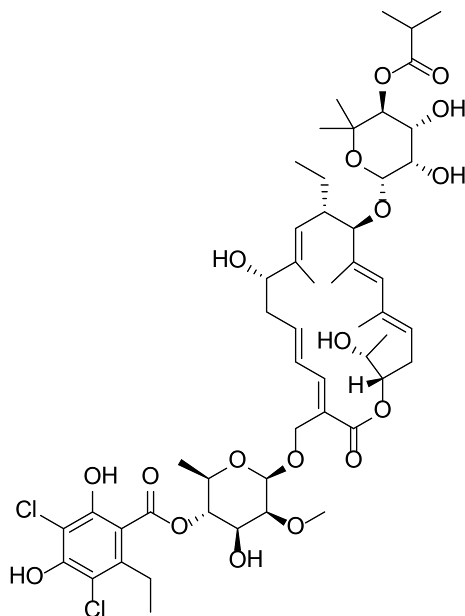
Hình 5.7.14. Cấu trúc spiramycin và tạp liên quan

4.2.4. Phổ kháng khuẩn

Phổ kháng khuẩn của spiramycin tương tự các macrolide khác. Hoạt tính kém hơn erythromycin A và thể hiện hoạt tính kháng đơn bào (antiprotozoal activity), ví dụ như trên *Toxoplasma gondii.* Sau khi dùng đường uống, một phần spiramycin bị mất đường mycarose tạo thành neospiramycin trong dạ dày.

4.3. Fidaxomicin

Fidaxomicin có khung cấu trúc của macrolide (vòng lactone chứa 18 nguyên tử), là sản phẩm của quá trình lên men của *Dactylosporangium aurantiacum* subspecies *hamdenesis.* Tuy nhiên, cơ chế tác dụng của fidaxomicin không giống với các macrolide khác (ức chế ribosome 50S), mà thông qua ức chế tổng hợp mRNA từ DNA (ức chế quá trình phiên mã).



Hình 5.7.15. Fidaxomicin

Khi dùng đường uống, fidaxomicin hầu như không được hấp thu vào máu. Nhóm isobutyl ester của fidaxomicin bị thủy phân một phần tạo sản phẩm chuyển hóa có hoạt tính nhưng kém hơn fidaxomicin.

Fidaxomicin có khả năng diệt khuẩn đối với *Clostridium difficile,* ngoài ra, thuốc có hoạt tính trung bình trên vi khuẩn gram dương và không có hoạt tính trên vi khuẩn gram âm và hệ vi sinh vật đường ruột. Năm 2011, fidaxomicin được FDA cấp phép cho chỉ định điều trị nhiễm trùng do *C. difficile* ở người lớn. Năm 2020, FDA cho phép sử dụng thuốc trên đối tượng trẻ em từ 6 tháng tuổi trở lên [21].

5. SỰ CHUYỂN HÓA

Sự *N*-demethyl hóa (loại một nhóm methyl) trên desoxamine thì phổ biến ở tất cả macrolide và ketolide. Tuy nhiên ở azithromycin, phần lớn không bị chuyển hóa, trong khi clarithromycin và erythromycin bị chuyển hóa *N*-demethyl đáng kể khi qua gan.

Nhóm keto trong ketolide đem đến sự ổn định phần nào đối với phân tử và nhánh bên ở vị trí 11,12 ngăn cản sự tạo thành dẫn chất anhydro không hoạt tính. Không như telithromycin, solithromycin không chứa nhân pyridine ở tận cùng dây nhánh, thay vào đó là một aminophenyl, được chuyển hóa thành chất trung gian có hoạt tính; ngoài ra, vòng 1,2,3 trong triazole ở dây nhánh trong solithromycin thì bền hơn vòng imidazole trong telithromycin *in vivo* (bị thủy phân tạo sản phẩm không hoạt tính). Cả telithromycin và solithromycin đều chứa nhóm 6-*O*-methyl như trong trường hợp clarithromycin để làm cho thuốc ổn định trong môi trường acid [22,23].

6. ỨNG DỤNG TRỊ LIỆU

Các macrolide nằm trong số các kháng sinh an toàn nhất, được sử dụng trong các trường hợp nhiễm trùng mô mềm, nhiễm trùng hô hấp trên và dưới, chủ yếu gây bởi vi khuẩn gram dương như *Streptococcus pyogenes, Streptococcus pneumonia,* bệnh Legionnaire; phòng ngừa viêm nội tâm mạc bởi *Streptococcus viridans;* nhiễm trùng hô hấp trên và dưới, viêm tai giữa bởi *Haemophilus influenzae* (kết hợp với sulfonamide), *Mycoplasma pneumoniae,* và nhiễm trùng phức hợp *Mycobacterium avium* ở bệnh nhân AIDS (kết hợp với rifabutin). Macrolide cũng được dùng ở một số bệnh lây lan qua đường sinh dục như bệnh lậu, bệnh viêm vùng chậu gây ra bởi nhiễm trùng phức hợp liên quan đến những vi sinh vật không có vách tế bào như *Chlamydia trachomatis*. Clarithromycin cũng nằm trong thành phần phối hợp các thuốc dùng điều trị loét dạ dày gây bởi *Helicobacter pylori*.

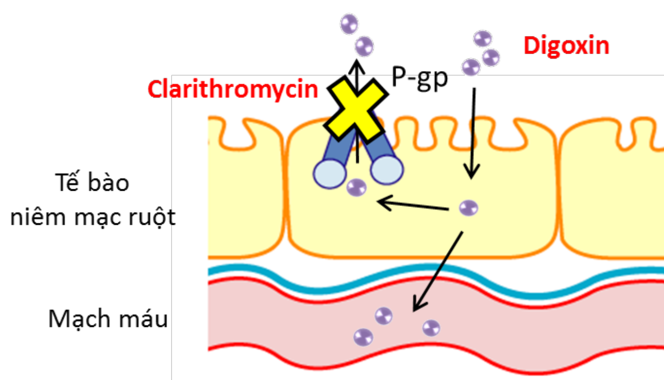
Việc gia tăng sử dụng macrolide để điều trị nhiễm trùng đường hô hấp trên là do ái lực đặc biệt của macrolide trên những mô này. Nồng độ thuốc trong mô ở đường hô hấp trên gấp nhiều lần nồng độ trong máu. Ở những nồng độ có thể đạt được, macrolide được xem là kìm khuẩn đối với các vi sinh vật.

Spiramycin phối hợp với metronidazole để điều trị nhiễm trùng ở khoang miệng do tác dụng tốt trên chủng yếm khí (nồng độ đỉnh spiramycin trong nước bọt 1.3 - 4.8 lần lớn hơn nồng độ tìm thấy trong huyết thanh). Trị nhiễm *Toxoplasma* ở phụ nữ mang thai.

7. TƯƠNG TÁC THUỐC

Tương tác thuốc - thuốc với macrolide là khá phổ biến và thường liên quan đến việc ức chế CYP3A4 thuộc gia đình cytochrome P450 oxidase.

Cũng có bằng chứng cho thấy nguyên nhân dẫn đến tương tác thuốc là do macrolide ức chế P-glycoprotein (P-gp) (một loại bơm ngược). Các tương tác này có thể gây hậu quả tiêu cực trầm trọng ở bệnh nhân do làm kéo dài $T_{1/2}$ và nồng độ thuốc dùng chung, làm gia tăng độc tính (ví dụ, clarithromycin ức chế P-gp tại ruột. Digoxin là cơ chất của P-gp nên khi P-gp bị ức chế, lượng digoxin bị P-gp bơm vào lòng ruột giảm đi và lượng digoxin hấp thu vào máu tăng lên, gây ngộ độc).



Hình 5.7.16. Tương tác thuốc giữa clarithromycin và digoxine [24]

8. TÁC DỤNG PHỤ - ĐỘC TÍNH

- Tác dụng phụ trên đường tiêu hóa

Erythromycin thường gây rối loạn thượng vị mức trung bình đến nặng. Erythromycin kích thích nhu động ruột thông qua kích hoạt thụ thể motilin. Clarithromycin, azithromycin, và telithromycin có thể gây rối loạn tiêu hóa nhưng ở mức độ thấp hơn erythromycin.

- Độc tính trên tim

Erythromycin, clarithromycin, azithromycin và telithromycin đã được báo cáo gây ra loạn nhịp tim, bao gồm kéo dài khoảng QT với nhịp nhanh thất (ventricular tachycardia). Độc tính trên tim gia tăng khi sử dụng các thuốc trên với thuốc trị loạn nhịp tim, hay các thuốc gây kéo dài khoảng QT.

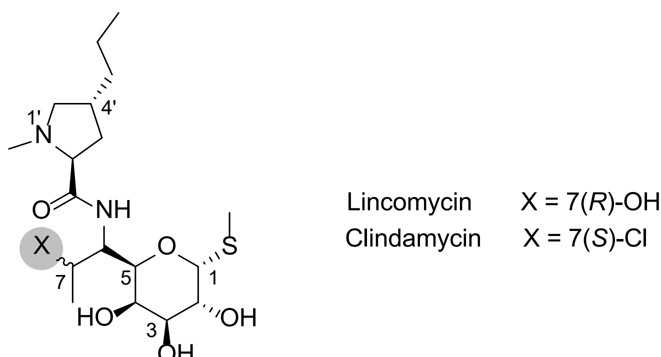
- Độc tính trên gan

Sử dụng lâu dài erythromycin có thể gây viêm gan ứ mật (khởi phát sau 10-20 ngày). Clarithromycin và azithromycin cũng có thể gây độc tính trên gan nhưng tỷ lệ thấp hơn. Đặc biệt, telithromycin có thể gây độc gan ở mức độ trầm trọng thông qua cơ chế ức chế nAChR.

Telithromycin còn làm trầm trọng bệnh ở bệnh nhân nhược cơ, rối loạn thị lực và ngất xỉu (syncope) [25].

B. KHÁNG SINH HỌ LINCOSAMIDE

1. CẤU TRÚC



Hình 5.7.17. Cấu trúc của các kháng sinh nhóm lincosamide

- Các lincosamide có chứa 1 đường thio 8 carbon (methyl 1-thio-α-lincosamine), được liên kết bởi 1 nối amide với *trans*-L-4-*n*-propylhygric acid.

- Lincosamide có tính base yếu (do nitrogen của pyrrolidine), thường dùng ở dạng muối HCl.

- Cấu trúc của lincosamide khác với macrolide, nhưng tác dụng dược lý thì tương tự. Lincosamide gắn với tiểu thể 50S của ribosome tại cùng vị trí gắn kết của macrolide và đề kháng chéo với macrolide; tác động kháng khuẩn với cơ chế tương tự macrolide.

- Lincosamide bị chuyển hóa phần lớn tại gan chủ yếu là sự *N*-demethyl hóa tạo sản phẩm vẫn còn tác dụng kháng khuẩn.

2. PHỔ KHÁNG KHUẨN

2.1. Lincomycin

- Kháng sinh thiên nhiên, được ly trích từ môi trường nuôi cấy *Streptomyces lincolnensis*. Hoạt tính trên vi khuẩn gram dương bao gồm một vài vi khuẩn yếm khí.

- Được chỉ định trong những nhiễm trùng trầm trọng gây bởi các chủng nhạy cảm như streptococci, pneumococci, staphylococci. Được dùng cho các trường hợp dị ứng penicillin.

2.2. Clindamycin

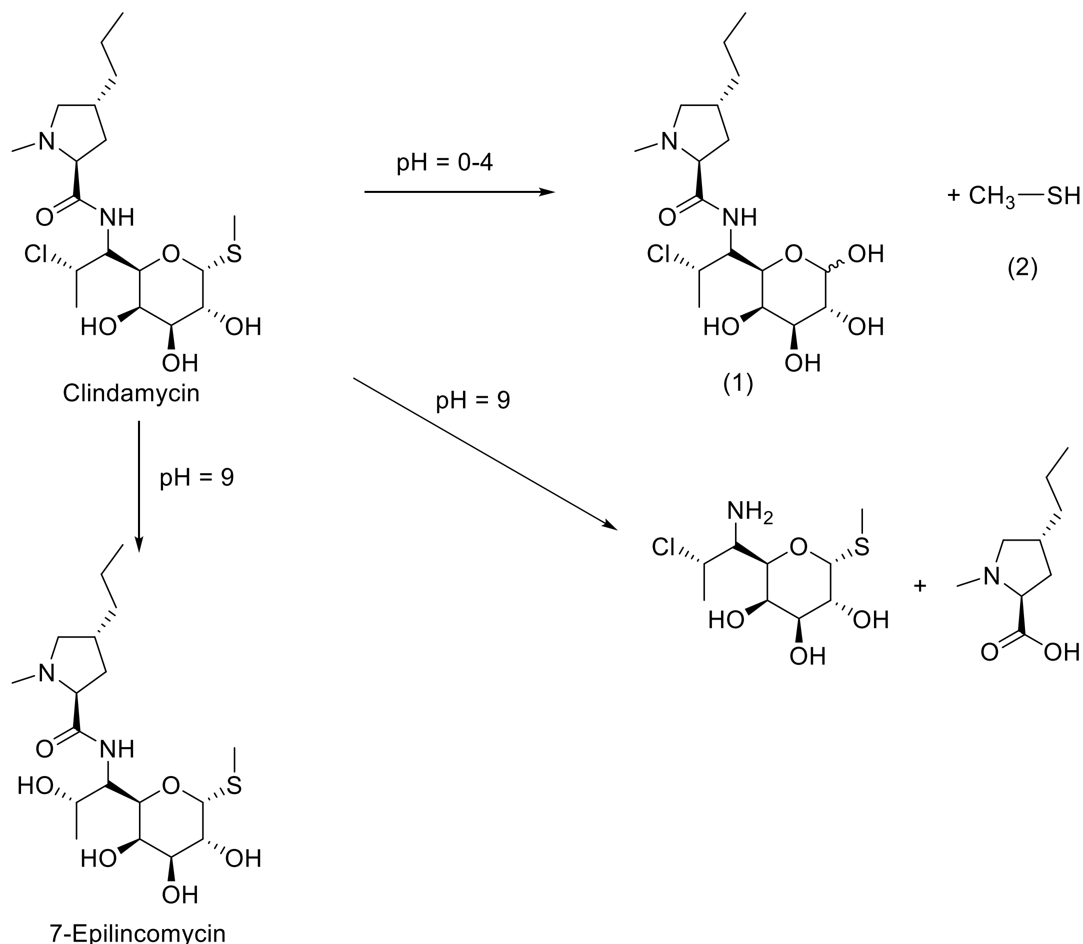
- Kháng sinh bán tổng hợp: Việc thay thế nhóm OH bằng Cl ở C7 (chuyển C7 từ cấu dạng R thành cấu dạng S) tạo ra clindamycin, có hoạt tính sinh học tốt hơn và thân lipid hơn lincomycin và vì vậy hấp thu tốt hơn khi dùng đường uống. Khoảng 90% clindamycin được hấp thu khi dùng đường uống.

- Clindamycin có phổ hoạt tính khá giống macrolide, thuốc này phân phối tốt hơn trong xương. Clindamycin tác dụng tốt trên những nhiễm trùng cầu khuẩn gram dương, đặc biệt ở những bệnh nhân dị ứng beta lactam và hoạt tính tốt hơn trên những vi khuẩn yếm khí. Tuy vậy, cũng như lincomycin, clindamycin thể hiện tác dụng phụ trên dạ dày - ruột (nôn mửa, buồn nôn, co thắt, tiêu chảy liên quan đến thuốc). Tác dụng phụ trầm trọng nhất là viêm ruột màng giả gây bởi *Clostridium dificile,* một vi khuẩn yếm khí cơ hội.

3. TÍNH CHẤT

- Lincomycin và clindamycin có 2 liên kết nhạy cảm với sự thủy giải đó là liên kết amide và liên kết thioglycoside.

- Đối với clindamycin tại pH = 0-4, sự thủy giải của liên kết thioglycoside cho hợp chất (1) và (2) (Hình 5.7.18). Ở pH > 4, đặc biệt ở pH = 9 có sự thủy giải của amide và xảy ra sự thế ái nhân của OH^- tại C7 cho ra lincomycin trong sự nghịch đảo cấu dạng (7-epilincomycin) [8].



Hình 5.7.18. Sự phân hủy của clindamycin

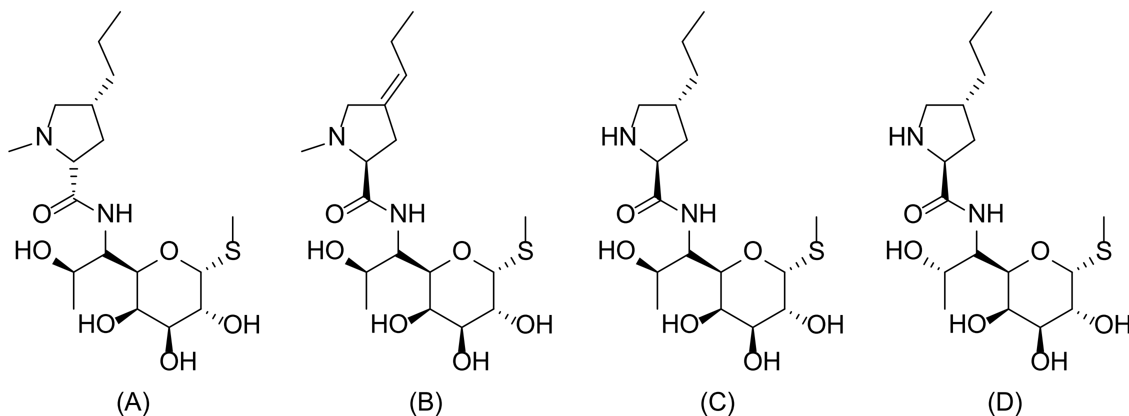
4. KIỂM NGHIỆM

- *Định tính:* Phổ IR, sắc ký lớp mỏng.

- *Kiểm tinh khiết*

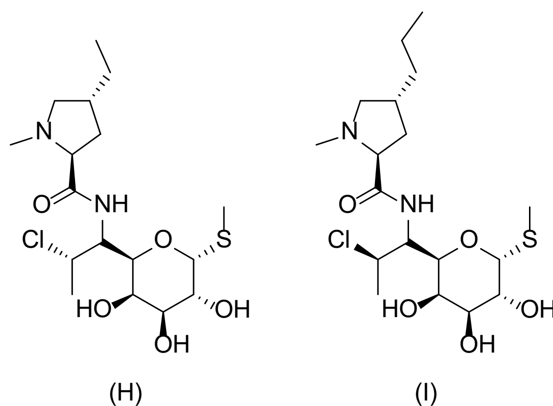
+ pH; năng suất quay cực.

+ Tạp liên quan trong kiểm nghiệm lincomycin: A (α-amide epimer), B (chất tương đồng propylidene), C (*N*-desmethyl lincomycin), D (7-epilincomycin), E (*trans*-L-4-*n*-propylhygric acid), F (methyl 1-thio-α-lincosamine).



Hình 5.7.19. Các tạp liên quan của lincomycin (BP 2018)

+ Tạp liên quan trong kiểm nghiệm clindamycin: G (lincomycin), H (clindamycin B), I (7- epiclindamycin).



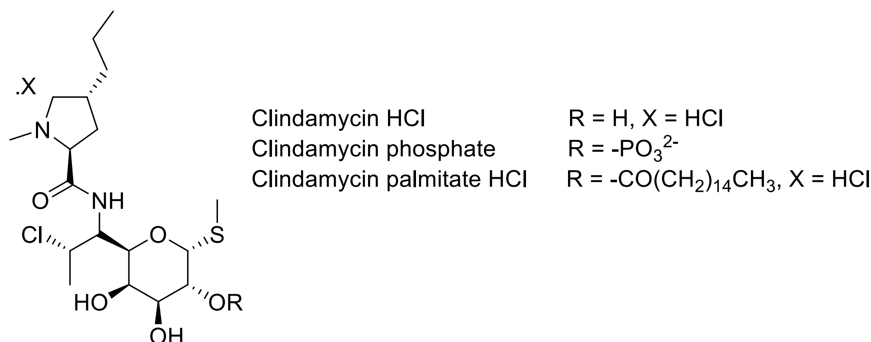
Hình 5.7.20. Các tạp liên quan của clindamycin (BP 2018)

- *Định lượng:* Phương pháp sắc ký lỏng.

5. DẠNG CHẾ PHẨM

- Lincomycin HCl: Viên nang, dung dịch tiêm.

- Dạng muối clindamycin HCl và dạng clindamycin phosphate rất dễ tan trong nước. Ngoài ra, clindamycin còn được sử dụng ở dạng tiền dược clindamycin palmitate hydrocloride nhằm làm giảm vị đắng của thuốc.



Hình 5.7.21. Các dạng muối của clindamycin

- Clindamycin HCl: Viên nang, dung dịch tiêm.

- Clindamycin phosphate: Dung dịch tiêm; gel bôi ngoài da; lotion.

- Clindamycin palmitate hydrochloride: Cốm pha thành dung dịch uống.

Câu hỏi tự lượng giá

1. Giải thích tại sao một số tài liệu gọi lincosamide là kháng sinh tương đồng với macrolide?

2. Nêu điểm thay đổi quan trọng về cấu trúc của macrolide bán tổng hợp thế hệ thứ 1 so với erythromycin A? Sự thay đổi cấu trúc này đem lại lợi điểm gì về sử dụng lâm sàng?

3. Nêu điểm thay đổi quan trọng về cấu trúc của macrolide bán tổng hợp thế hệ thứ 1 so với ketolide? Sự thay đổi cấu trúc này đem lại lợi điểm gì về sử dụng lâm sàng?

Tài liệu tham khảo

1. Bryskier AJ. and others. Macrolides: chemistry, pharmacology and clinical uses. Arnette Blackwell, Paris. 1993.

2. Maxim S. Svetlov, Nora Vázquez-Laslop, Alexander S. Mankin. Mechanism of cidality of macrolide antibiotics. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017 Dec;1 14(52):13673-13678.

3. Svetlov MS, Syroegin EA, Aleksandrova EV et al. Structure of Erm-modified 70S ribosome reveals the mechanism of macrolide resistance. Nat Chem Biol. 2021 Jan; 17:412-420.
4. Corey Fyfe, Trudy H. Grossman, Kathy Kerstein, and Joyce Sutcliffe. Resistance to Macrolide Antibiotic s in Public Health Pathogens. Cold Spring Harb Perspect Med 2016; 6:a025395
5. Mariya Morar, Kate Pengelly, Kalinka Koteva, and Gerard D. Wright. Mechanism and Diversity of the Erythromycin Esterase Family of Enzymes. Biochemistry 2012, 51, pp.1740-1751
6. Golkar T, Zieliński M, Berghuis AM. Look and Outlook on Enzyme-Mediated Macrolide Resistance. Front Microbiol. 2018 Aug 20; 9:1942.
7. Gentry EJ. Antibiotics and Antimicrobial Agents. In: Lemke TL, Williams DA, Roche VF, Zito SW, editors. Foye's Principles of Medicinal Chemistry. 7th ed. United States: Lippincott Williams & Wilkins; 2013. pp.1110-1113.
8. Roth HJ, Eger K, Troschütz R. Pharmaceutical chemistry - Volume 2. Drug analysis. Ellis Horwood. 1991. 148-150; pp.191-194.
9. Bryskier A: Coordinateur. Antibiotiques, agents antibactériens et antifongiques. Ellipses. 1999, pp.501-525.
10. Counter FT, Ensminger PW, Preston DA, Wu CY, Greene JM, Felty-Duckworth AM, Paschal JW, Kirst HA. Synthesis and antimicrobial evaluation of dirithromycin (AS-E 136; LY237216), a new macrolide antibiotic derived from erythromycin. Antimicrob Agents Chemother. 1991 Jun; 35(6):1116-1126.
11. Pichkur EB, Paleskava A, Tereshchenkov AG, Kasatsky P, Komarova ES, Shiriaev DI. Insights into the improved macrolide inhibitory activity from the high-resolution cryo-EM structure of dirithromycin bound to the *E. coli* 70S ribosome. RNA. 2020 Jun; 26(6):715-723.
12. Barry AL, Jones RN, Thornsberry C. In vitro activities of azithromycin (CP 62,993), clarithromycin (A-56268; TE-031), erythromycin, roxithromycin, and clindamycin. Antimicrob Agents Chemother. 1988 May; 32(5):752-754.
13. "Telithromycin: a welcome market withdrawal" Prescrire Int 2018; 27 (196): 210.
14. Daher SS, Jin X, Patel J, Freundlich JS, Buttaro B, Andrade RB. Synthesis and biological evaluation of solithromycin analogs against multidrug resistant pathogens. Bioorg Med Chem Lett. 2019 Jun 1; 29(11):1386-1389.
15. Douthwaite S. Structure-activity relationships of ketolides vs. macrolides. Clin Microbiol Infect. 2001; 7 Suppl 3:11-17.

16. Maxim S. Svetlov, Nora Vázquez-Laslop, Alexander S. Mankin. Mechanism of cidality of macrolide antibiotics. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017 Dec; 114(52):13673-13678.

17. Fernandes P, Pereira D, Watkins PB, Bertrand D. Differentiating the Pharmacodynamics and Toxicology of Macrolide and Ketolide Antibiotics. J Med Chem. 2020 Jun 25; 63(12):6462-6473.

18. McGhee P, Clark C, Kosowska-Shick KM, Nagai K, Dewasse B, Beachel L, Appelbaum PC. In vitro activity of CEM-101 against Streptococcus pneumoniae and Streptococcus pyogenes with defined macrolide resistance mechanisms. Antimicrob Agents Chemother. 2010 Jan; 54(1):230-238.

19. Bonnefoy A, Girard AM, Agouridas C, Chantot JF. Ketolides lack inducibility properties of MLS_B resistance phenotype. J. Antimicrob chemother. 1997 Jul; 40(1):85-90.

20. Fernandes P, Pereira D, Watkins PB, Bertrand D. Differentiating the Pharmacodynamics and Toxicology of Macrolide and Ketolide Antibiotics. J Med Chem. 2020 Jun 25; 63(12):6462-6473.

21. Zhanel GG, Walkty AJ, Karlowsky JA. Fidaxomicin: A novel agent for the treatment of Clostridium difficile infection. Can J Infect Dis Med Microbiol. 2015 Nov-Dec; 26(6):305-312.

22. MacLauchlin C, Schneider SE, Keedy K, Fernandes P, Jamieson BD. Metabolism, excretion, and mass balance of solithromycin in humans. Antimicrob Agents Chemother. 2018 Apr; 62(5):e01474-17.

23. Agouridas C, Benedetti Y, Bonnefoy A *et al.* Ketolides: a new class of macrolide antibacterials-structural characteristics and biological properties of RU 64004. Cur Infect Dis Ther. 1997; 21:279-295.

24. Rengelshausen J, Göggelmann C, Burhenne J, Riedel KD, Ludwig J, Weiss J. Contribution of increased oral bioavailability and reduced nonglomerular renal clearance of digoxin to the digoxin-clarithromycin interaction. Br J Clin Pharmacol. 2003 Jul;56(1):32-38.

25. MacDougall C. Protein Synthesis Inhibitors and Miscellaneous Antibacterial Agents. In: Brunton LL, Hilal-Dandan R, Knollmann BC, editors. Goodman&Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. 13th ed. United States: McGraw-Hill Education; 2018. pp.1053-1057.

26. Hansen HL, Mauvais P, Douthwait S. The macrolide - ketolide antibiotic binding site is formed by structure in domains II and V of 23S ribosomal RNA. Mol Microbiol. 1999 Jan; 31(2):623-631.

27. Douthwait S, Hansen LH, Mauvais P. Macrolide - ketolide inhibition of MLS-resistant ribosomes is improved by alternative drug interaction with domain II of 23S rRNA. Mol Microbiol. 2000 Apr; 36(1):183-193.

28. Pachot JI, Botham RP, Haegele KD, Hwang K. Experimental estimation of the role of P-Glycoprotein in the pharmacokinetic behaviour of telithromycin, a novel ketolide, in comparison with roxithromycin and other macrolides using the Caco-2 cell model. J Pharm Pharm Sci. 2003 Jan-Apr; 6(1):1-12.

5.8. NHÓM TETRACYCLINE

Hoạt chất được đề cập

Chlortetracycline	Doxycycline	Tigecycline
Oxytetracycline	Minocycline	Eravacycline
Tetracycline	Sarecycline	Omadacycline

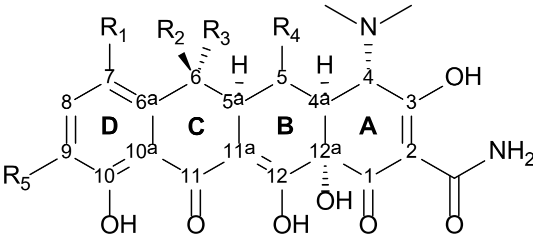
1. GIỚI THIỆU

Tetracycline là một trong những nhóm kháng sinh phổ rộng. Các tetracycline đầu tiên, được gọi là tetracycline thế hệ 1 (chlortetracycline, oxytetracycline và tetracycline) có được từ sự lên men *Streptomyces* spp.; các tetracycline thế hệ 2 (nhóm này hiện chỉ có doxycycline và minocycline là còn được sử dụng) được bán tổng hợp từ những sản phẩm tự nhiên.

Kháng sinh nhóm tetracycline có một số tác dụng phụ gây khó chịu nhưng không đến nỗi nguy hiểm. Do phổ kháng khuẩn rộng, bao gồm cả những mầm gây bệnh gặp phải trong cộng đồng nên họ kháng sinh này đã từng được sử dụng rộng rãi. Việc ra đời những họ kháng sinh khác và sự xuất hiện rộng rãi các chủng vi khuẩn đề kháng đã làm cho việc sử dụng các kháng sinh họ tetracycline bị giảm đi.

Trong nỗ lực khám phá những chất tương đồng hiệu quả chống lại những chủng đề kháng, gần đây, các nhà khoa học đã tái nghiên cứu liên quan cấu trúc - tác dụng (SAR) của tetracycline và cho ra đời một số tetracycline thế hệ mới (thế hệ 3) ít bị kháng thuốc như tigecycline (2005), sarecycline, eravacycline và omadacycline (2018).

2. CẤU TRÚC



Hình 5.8.1. Cấu trúc chung của kháng sinh họ tetracycline

	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5
Tetracycline	H	OH	CH_3	H	H
Chlortetracycline	Cl	OH	CH_3	H	H
Oxytetracycline	H	OH	CH_3	OH	H
Doxycycline	H	CH_3	H	OH	H

	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5
Minocycline	$-N(CH_3)_2$	H	H	H	H
Sacrecycline	$—CH_2-N(CH_3)(OCH_3)$	H	H	H	H
Tigecycline	$-N(CH_3)_2$	H	H	H	—NH–C(=O)–CH₂–HN–C(CH₃)₃ (H₃C, CH₃, CH₃)
Eravacycline	F	H	H	H	—NH–C(=O)–CH₂–N(pyrrolidine)
Omadacycline	$-N(CH_3)_2$	H	H	H	—CH₂–NH–CH₂–C(CH₃)₃ (H₃C, CH₃, CH₃)

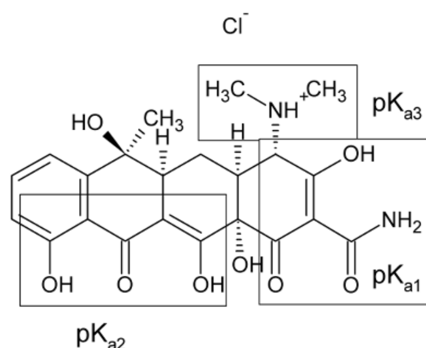
- Các tetracycline là dẫn chất của octahydronaphthacene, một hệ hydrocarbon gồm 4 vòng 6 cạnh.

- Đặc điểm về phổ và hóa học của các cycline rất tương tự nhau.

- Hóa lập thể của tetracycline rất phức tạp. Các carbon 4, 4a, 5, 5a, 6, và 12a có khả năng là những carbon bất đối tùy nhóm thế.

3. TÍNH CHẤT LÝ HÓA

- *Tính lưỡng tính:* Kháng sinh họ tetracycline là những chất có màu vàng, lưỡng tính với 3 giá trị pK_a (pK_{a1} ~ 2.8-3.4; pK_{a2} = 7.2-7.8; và pK_{a3} = 9.1-9.7) và có điểm đẳng điện khoảng 5 (Bảng 5.8.1). Tính base do nhóm C4-α-dimethyl amino (pK_{a3}). Hệ enone phenolic liên hợp mở rộng từ C10-C12 tương ứng với pK_{a2}. Trong khi hệ trione liên hợp mở rộng từ C1-C3 trong vòng A thể hiện tính acid như acetic acid (pK_{a1}) (Hình 5.8.2). Trên thị trường, tetracycline được sử dụng dưới dạng muối tetracycline hydrochloride tương đối tan trong nước. Tuy vậy, những kháng sinh lưỡng tính này sẽ kết tinh từ dung dịch muối của chúng, trừ khi được ổn định bởi một lượng dư acid. Các muối hydrochloride cũng được dùng phổ biến nhất cho dạng chế phẩm đường uống và thường dùng dạng "capsule" (viên nang cứng) bởi vì chúng có vị đắng. Muối tan trong nước cũng có thể có được từ những base như kali và natri hydroxyde, nhưng chúng không bền trong dung dịch nước. Những tác nhân kiềm hòa tan như natri bicabonate trung hòa dạng muối hydrochloride do vậy làm giảm sự hấp thu ở dạ dày - ruột của các tetracycline [1].



Hình 5.8.2. Các phần cấu trúc liên quan đến tính lưỡng tính của tetracycline

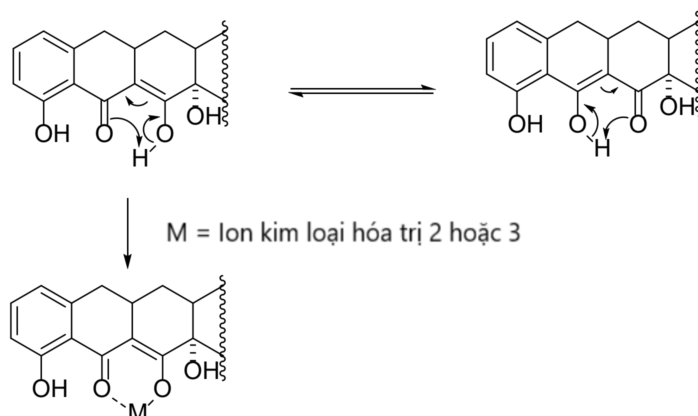
Bảng 5.8.1. Giá trị pK_a (dạng muối hydrochloride) trong dung dịch nước ở 25 °C

	pK_{a1}	pK_{a2}	pK_{a3}
Tetracycline	3.3	7.7	9.5
Chlortetracycline	3.3	7.4	9.3
Demeclocycline	3.3	7.2	9.3
Oxytetracycline	3.3	7.3	9.1
Doxycycline	3.4	7.7	9.7
Minocycline	2.8	7.8	9.3

- *Sự chelate hóa:* Sự chelate hóa là một tính chất quan trọng của tetracycline về lâm sàng và hóa học. Chức acid của tetracycline có khả năng tạo muối thông qua sự chelate hóa với các ion kim loại (Hình 5.8.3). Muối của ion kim loại đa hóa trị như Fe^{2+}, Ca^{2+}, Mg^{2+} và Al^{3+}, tất cả đều không tan ở pH trung tính. Tính không tan này không những bất lợi cho việc bào chế các dung dịch mà còn can thiệp vào sinh khả dụng đường uống. Kết quả là các tetracycline tương kỵ khi dùng chung với các thuốc kháng acid chứa ion kim loại đa hóa trị và việc sử dụng đồng thời tetracycline với thực phẩm chứa ion calcium đều bị chống chỉ định. Khi cần, các sản phẩm chứa ion kim loại nên được sử dụng 1 giờ trước hoặc 2 giờ sau khi dùng tetracycline [2].

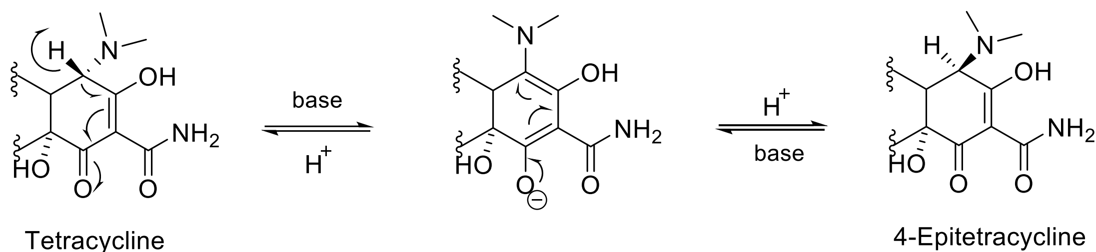
Ngoài ra, tetracycline tích tụ ở những cấu trúc giàu calcium như xương và đặc biệt là răng, tỉ lệ với liều lượng và thời gian điều trị với tetracycline lúc xương và răng đang được hình thành. Các tetracycline có màu vàng, điều này dẫn đến sự biến màu răng, có trường hợp răng trở nên nâu. Việc gia tăng sự biến màu răng theo thời gian được cho là một tiến trình quang hóa. Điều này không đẹp về mặt thẩm mỹ, nhưng dường như không có hại, ngoại trừ trong trường hợp hiếm gặp, tetracycline được dùng quá nhiều đến nỗi cấu trúc xương bị yếu cơ học.

Tetracycline qua được sữa mẹ và nhau thai, có thể tác dụng lên xương và răng của trẻ, vì vậy chống chỉ định cho bà mẹ mang thai và cho con bú cũng như trẻ dưới 8 tuổi.



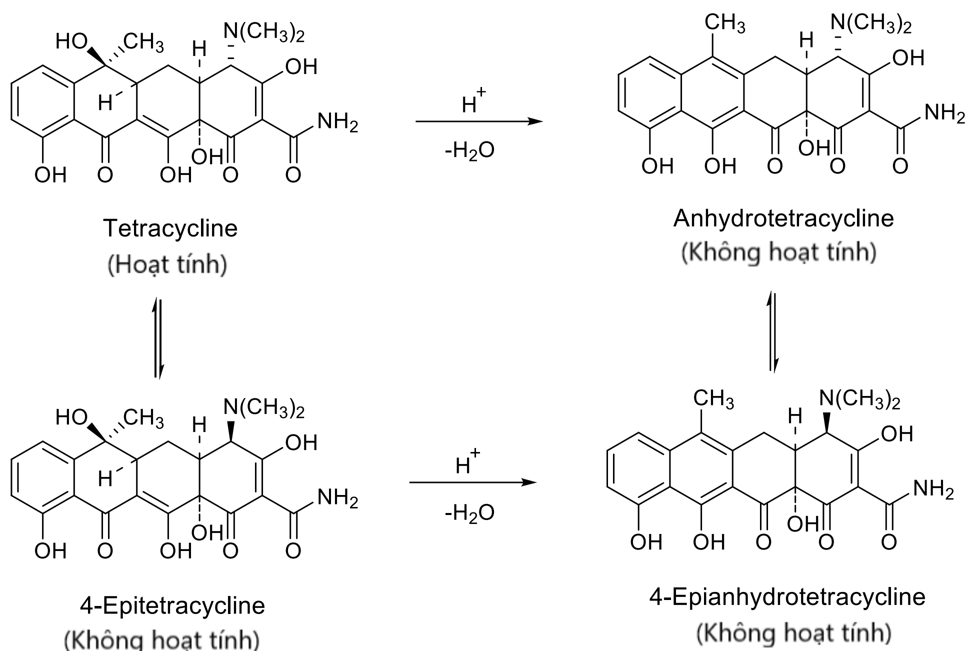
Hình 5.8.3. Sự chelate hóa của các tetracycline với ion kim loại

- *Sự epimer hóa:* Định hướng α trong không gian của nhóm dimethylamino tại C4 là cần thiết cho hoạt tính sinh học của tetracycline. Sự hiện diện của hệ thống tricarbonyl của vòng A cho phép sự enol hóa liên quan đến sự mất hydrogen tại C4 (Hình 5.8.4). Sự proton hóa trở lại có thể xảy ra ở cả hai phía của vòng A, tạo tetracycline, hoặc tạo ra đồng phân xuyên lập thể phân (diastereoisomer) không hoạt tính 4-epitetracycline (định hướng β). Ở trạng thái cân bằng, hỗn hợp bao gồm lượng gần bằng nhau của 2 đồng phân dia [2].



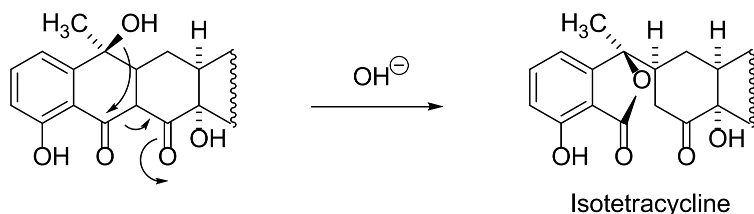
Hình 5.8.4. Sự epimer hóa tetracycline

- *Sự dehydrate hóa:* Đa số các tetracycline tự nhiên có nhóm hydroxy tại C6. Nhóm chức này có vị trí lý tưởng cho sự dehydrate hóa xúc tác acid liên quan đến hydro định hướng α tại C5a, tạo thành dẫn chất naphthalene là anhydrotetracycline (thuận lợi về mặt năng lượng). Sản phẩm này có màu đậm hơn tetracycline và không có hoạt tính sinh học. 4-Epitetracycline có thể bị dehydrate hóa để tạo thành 4-epianhydrotetracycline và từ đó cũng có thể tạo thành anhydrotetracycline (Hình 5.8.5). Sản phẩm dehydrate hóa thì độc với thận và tạo ra hội chứng "Fanconi-like", trong vài trường hợp hiếm gặp có thể nguy hiểm đến tính mạng. Các tetracycline bán tổng hợp không có OH ở C6 như minocycline, doxycycline không có hiện tượng dehydrate hóa và do đó hoàn toàn không có độc tính này [1,2].



Hình 5.8.5. Sự không bền của tetracycline với xúc tác acid

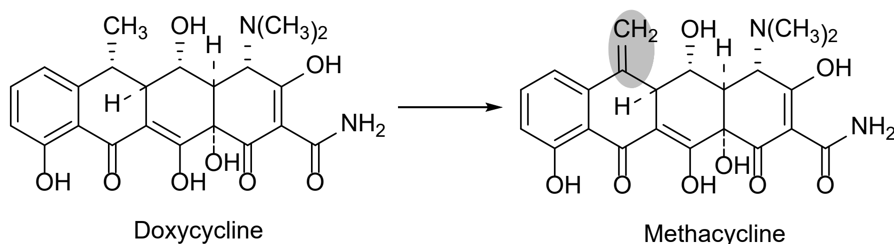
- *Sự phân cắt trong môi trường kiềm:* Một phản ứng phân hủy bất lợi khác liên quan đến nhóm 6-hydroxy là sự cắt vòng C trong dung dịch kiềm tại pH ≥ 8.5, sản phẩm lactone sinh ra là một isotetracycline không hoạt tính [2].



Hình 5.8.6. Sự phân cắt tetracycline trong môi trường kiềm

- *Độc tính khi tiếp xúc với ánh sáng (phototoxicity):* Vài tetracycline, nhất là các tetracycline có chứa nguyên tử Cl ở C7, hấp thu ánh sáng vùng khả kiến dẫn đến tạo thành gốc tự do và có khả năng gây ra đỏ da (erythema) trầm trọng ở những bệnh nhân nhạy cảm khi tiếp xúc với ánh sáng mặt trời mạnh. Tác dụng này tương đối hiếm với hầu hết tetracycline còn sử dụng phổ biến hiện nay.

- Các tetracycline có nhóm methyl ở vị trí 6 trong quá trình bảo quản, dưới tác động của nhiệt, ánh sáng và độ ẩm nhóm methyl có thể chuyển thành methylene, tạo tạp chất có hoạt tính kháng khuẩn giảm. Ví dụ như methacycline là tạp chất của doxycycline (Hình 5.8.7). Do đó các tetracycline cần được bảo quản nơi khô ráo, tránh ánh sáng và các chất oxy hóa [3].



Hình 5.8.7. Methacycline tạo thành từ doxycycline

4. KIỂM NGHIỆM

- Định tính:

+ Các dược điển ít dùng phổ IR hoặc không dùng một mình phổ IR để định tính các tetracycline do đặc điểm về cấu trúc rất giống nhau của các tetracycline.

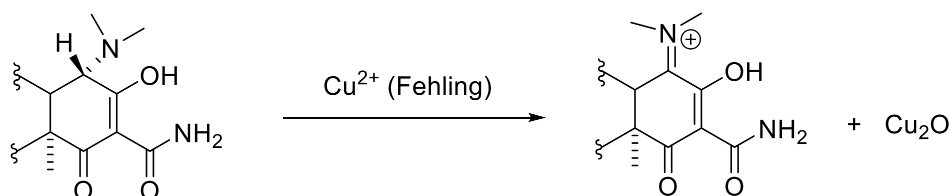
+ Sắc ký lớp mỏng.

+ Phản ứng với H_2SO_4 đậm đặc: Sự dehydrate hóa các tetracycline có nhóm OH ở C6 cho màu khác nhau tùy từng loại tetracycline. Sau đó tất cả chuyển thành màu vàng nâu của anhydrotetracycline.

+ Phát quang trong môi trường kiềm.

+ Phản ứng với $FeCl_3$: Tạo tủa chelate với Fe^{3+} nâu sậm.

+ Phản ứng với thuốc thử Fehling: Hòa tan tetracyline trong NaOH, cho thuốc thử Fehling vào, đun nóng. Phản ứng xảy ra qua 2 bước: (*i*) tạo phức chelate với Cu^{2+} xanh lá, (*ii*) oxy hóa khử tạo Cu_2O.



Hình 5.8.8. Phản ứng oxy hóa khử giữa tetracycline và thuốc thử Fehling

+ Phản ứng xác định dạng muối HCl bằng $AgNO_3/HNO_3$

- Kiểm tinh khiết:

+ pH.

+ Độ quay cực riêng.

+ Tạp liên quan bằng sắc ký lỏng.

+ Độ hấp thu đặc hiệu trong vùng UV.

+ Tạp hấp thu ánh sáng bằng cách đo độ hấp thu UV.

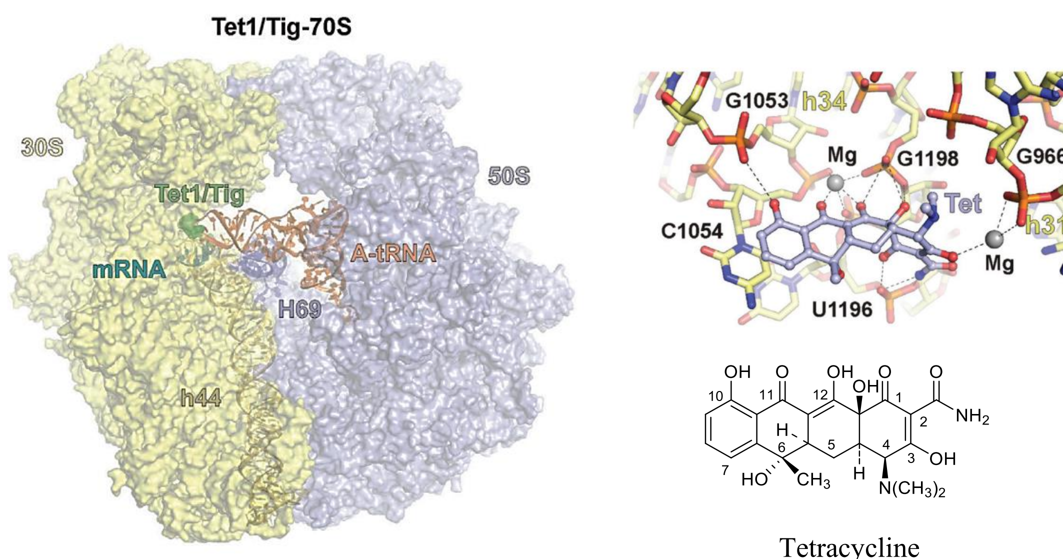
- *Định lượng:* Phương pháp sắc ký lỏng.

5. CƠ CHẾ TÁC DỤNG

Tetracycline có thể đi qua lớp màng ngoài của vi khuẩn gram âm bằng các kênh porin dưới dạng phức chelate với Mg^{2+}. Sau đó tetracycline thấm qua lớp lipid kép của màng sinh chất dưới dạng tự do không tích điện [4].

Các tetracycline can thiệp vào sự sinh tổng hợp protein tại ribosome đưa đến sự kìm khuẩn. Tetracycline có thể gắn vào rRNA trong tiểu đơn vị 30S tại nhiều vị trí khác nhau, nhưng duy nhất một vị trí là tối cần thiết cho tác dụng (primary binding site).

Hình 5.8.9 cho thấy tetracycline tạo liên kết với các nucleotide của rRNA qua những nhóm chức tại vị trí 1, 10-12a, 2 và 3. Liên kết hydro được tạo thành trực tiếp hay gián tiếp, thông qua ion Mg^{2+} (giữa oxy ở vị trí 11 và 12 với nhóm phosphate của G1198). Vòng D tạo liên kết kiểu stacking với C1054. Chức dimethylamino được cho là cần thiết cho hoạt tính (nhưng không thấy tạo liên kết trên hình tinh thể tia X). Một khi tetracycline gắn vào rRNA, kháng sinh này sẽ ức chế sự gắn của aminoacyltransfer-RNA (A-tRNA) với ribosome (ngay tại vị trí anticodon của tRNA), đưa đến kết thúc việc kéo dài chuỗi peptide. Các tetracyclin thân lipid hơn điển hình là minocycline cũng có khả năng phá vỡ chức năng của màng sinh chất, gây ra sự rò rỉ nucleotide và những thành phần quan trọng khác của tế bào, và vì vậy có đặc tính diệt khuẩn.

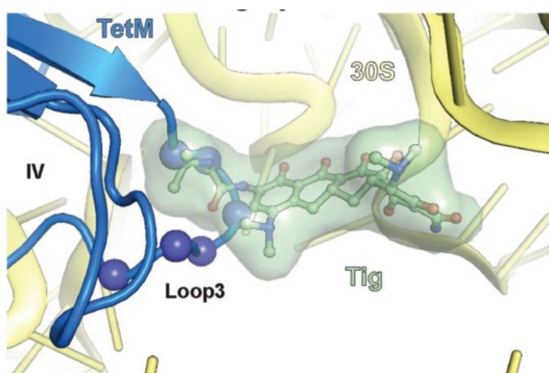


Hình 5.8.9. Vị trí gắn kết của tetracycline (Tet)/tigecycline (Tig) trong phức hợp ribosome 70S - A-tRNA [5]

6. SỰ ĐỀ KHÁNG

- Bơm ngược (bơm kháng thuốc) đẩy thuốc ra khỏi tế bào là cơ chế đề kháng phổ biến nhất của vi khuẩn đối với kháng sinh họ tetracycline. Có khoảng 30 loại gen mã hóa sản xuất bơm kháng thuốc đã được biết đến, đa số gây đề kháng với các tetracycline thế hệ 1. Hoạt tính của bơm kháng thuốc giảm trên các tetracycline thế hệ mới.

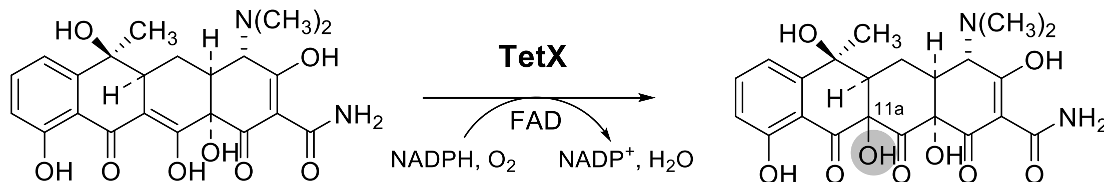
- Protein bảo vệ ribosome: những protein này được sản sinh và gắn với ribosome, phục hồi hoạt động sinh tổng hợp protein ngay cả có sự hiện diện của các kháng sinh họ tetracycline. Ví dụ, TetM là một protein gây cản trở không gian làm cho các cycline không còn gắn được với ribosome.



Hình 5.8.10. Một đoạn peptide của TetM (loop3) gây cản trở sự gắn kết của tigecycline lên ribosome [6]

- Đột biến thay đổi cấu trúc ribosome, chủ yếu ở rRNA 16S, làm giảm ái lực của các cycline đối với ribosome của vi khuẩn.

- Enzyme phân hủy thuốc: TetX là enzyme xúc tác phản ứng hydroxyl hóa ở vị trí 11a của các tetracycline, với sự tham gia của oxy và các cofactor như FAD, NADPH (Hình 5.8.11). Nhóm hydroxyl được gắn tại vị trí này làm cản trở sự tạo chelate với Mg^{2+} của các cycline ở vị trí 11 và 12, vốn rất quan trọng cho sự gắn kết với ribosome. Hơn nữa, sản phẩm hydroxyl hóa kém bền và dễ bị phân hủy.



Hình 5.8.11. Cơ chế bất hoạt tetracycline bởi enzyme TetX

Hiện nay, một loạt các enzyme tương đồng với TetX đã được tìm thấy ở các vi khuẩn không gây bệnh và vi khuẩn gây bệnh, được gọi chung là nhóm "tetracycline destructase". Năm 2019, hai biến thể của TetX là TetX3 và TetX4 đã được phát hiện trong plasmid của một số vi khuẩn thuộc họ Enterobacteriaceae và chi Acinetobacter. Điều đáng lo ngại là plasmid chứa gen mã hóa TetX3 và TetX4 có thể dễ dàng trao đổi giữa các vi khuẩn gây bệnh, gây đề kháng với tất cả các tetracycline kể cả các thuốc thế hệ mới như tigecycline, eravacycline và omadacycline [7].

7. PHỔ KHÁNG KHUẨN - ỨNG DỤNG TRỊ LIỆU [2]

Tetracycline có hoạt tính kìm khuẩn rất rộng; sự khác nhau về phổ kháng khuẩn của các tetracycline là không lớn, mặc dù sự đề kháng nhiều hơn đối với các tetracyclin cũ làm giới hạn việc sử dụng của chúng.

- Kháng sinh họ tetracycline được dùng trong các trường hợp nhiễm trùng đường tiểu mắc phải trong cộng đồng (phần lớn gây bởi *E. coli*), nhiễm Brucella (brucellosis), bệnh nhiễm Borrelia - bệnh Lyme (borreliosis), bệnh lây qua đường tình dục (đặc biệt Chlamydia), các bệnh nhiễm Rickettsia, *Mycoplasma pneumonia,* ngừa sốt rét, ngăn ngừa tiêu chảy cho người đi du lịch, tả (cholera), các nhiễm trùng *Enterobacter,* một phần của phối hợp điều trị *Helicobacter,* bệnh than (anthrax),…

- Họ tetracycline còn được dùng rộng rãi trong điều trị mụn (acne) từ trung bình đến trầm trọng do khả năng ức chế sự phát triển của *Cutibacterium acnes,* một loại vi khuẩn gram dương, kỵ khí đi kèm với những tổn thương do mụn. Hai kháng sinh được sử dụng nhiều cho mục đích này là doxycycline và minocycline do sinh khả dụng được cải thiện, tính thân lipid gia tăng giúp cải thiện sự hấp thu vào tuyến bã nhờn. Các protein/enzyme do *C. acnes* tạo ra có vai trò gây viêm cũng bị giảm sản xuất như một hệ quả của việc ức chế tổng hợp protein bởi các tetracycline.

- Các tetracycline cũng được dùng rộng rãi trong nông nghiệp và thú y.

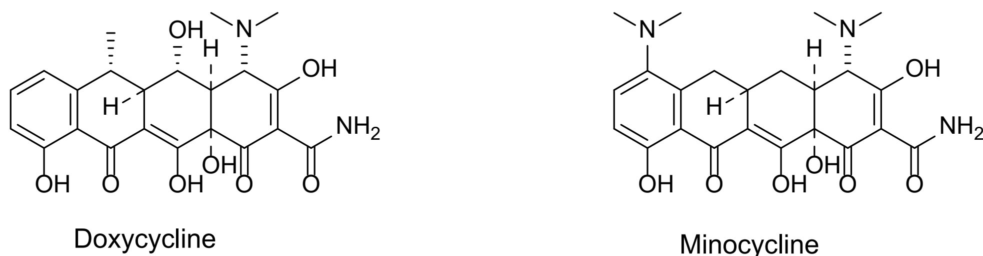
8. CÁC THUỐC TRONG NHÓM

8.1. Tetracycline thế hệ 1

Bao gồm các hợp chất có nguồn gốc tự nhiên: chlortetracycline, oxytetracycline và tetracycline. Do có nhóm 6-OH, các tetracycline thế hệ 1 đều bị phân hủy trong môi trường acid mạnh (pH < 2) và kiềm mạnh (xem phần 3).

Trong các kháng sinh thế hệ 1, tetracycline được sử dụng nhiều nhất vì đạt nồng độ trong máu và trong dịch não tủy cao hơn và kéo dài hơn oxytetracycline và chlortetracycline.

8.2. Tetracycline thế hệ 2



Hình 5.8.12. Cấu trúc doxycycline và minocycline

Nhằm khắc phục nhược điểm kém bền trong acid và kiềm mạnh của các tetracycline thế hệ 1, các tetracycline bán tổng hợp như doxycline và minocycline được loại bỏ nhóm 6-OH. Hơn nữa, kết quả nghiên cứu cho thấy nhóm 6-OH và nhóm 6-CH_3 không cần thiết cho hoạt tính kháng khuẩn.

Loại bỏ nhóm 6-OH còn làm tăng độ thân dầu của thuốc, dẫn đến thay đổi các thông số dược động học: doxycycline và minocycline có sinh khả dụng đường uống tăng, độ thanh thải của thận giảm và thời gian bán thải ($T_{1/2}$) tăng.

Bảng 5.8.2. Tương quan giữa độ thân dầu (hệ số phân chia octanol/nước) của các tetracycline với một số thông số dược động học [1]

Hoạt chất	Hệ số phân chia octanol/nước (pH 5.6)	Sinh khả dụng đường uống (%)	Độ thanh thải của thận (mL/phút/1.73 m^2)	$T_{1/2}$ (giờ)
Tetracycline	0.056	58	50-80	10
Oxytetracycline	0.075	77-80	99-102	9
Chlortetracycline	0.41	25-30	32	7
Doxycycline	0.95	93	18-28	15
Minocycline	1.10	100	5-15	19

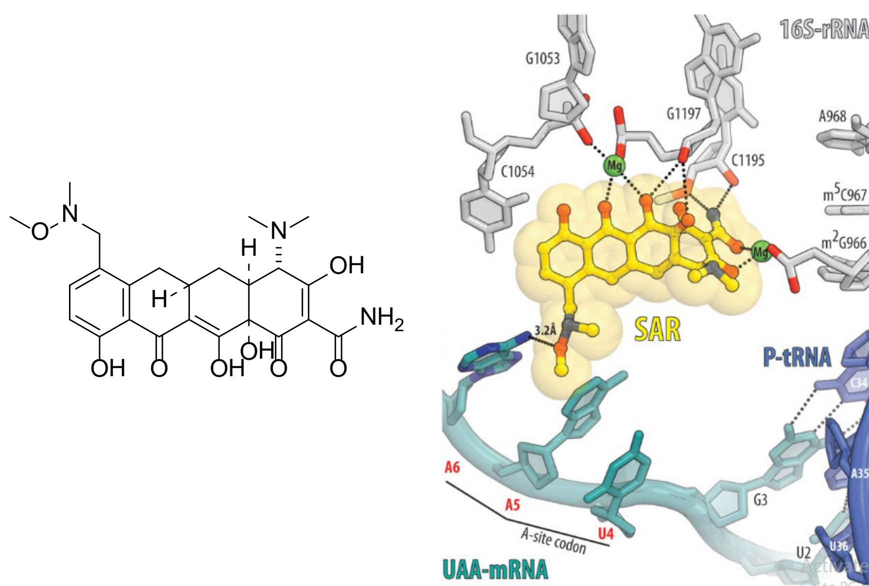
Nghiên cứu SAR của các tetracycline đã có, kết hợp với cấu trúc tinh thể đồng kết tinh của tetracycline với ribosome cho thấy các vị trí trên cấu trúc tetracycline có thể thay đổi nhằm cải thiện hoạt tính cũng như vượt qua sự đề kháng. Các nhà khoa học tập trung vào vị trí C7 và C9, nơi không tham gia liên kết trực tiếp với ribosome và thành quả là sự ra đời lần lượt của minocycline, tigecycline, sarecycline, eravacycline và omadacycline. Ở minocycline, việc gắn nhóm dimethylamino ở C7 đẩy điện tử mạnh làm tăng hoạt tính kháng khuẩn. Ưu điểm nổi bật của minocycline là hoạt tính mạnh trên vi khuẩn gram dương, đặc biệt là staphylococci và streptococci, kể cả các chủng đề kháng methicillin và doxycycline.

8.3. Tetracycline thế hệ 3

8.3.1. Sarecycline

Sarecycline (FDA-2018) là một ngoại lệ của kháng sinh họ tetracycline do phổ kháng khuẩn hẹp, được dùng đặc trị mụn do có hoạt tính trên vi khuẩn gram dương, trong đó có *Cutibacterium acnes*. Sarecycline có hoạt tính yếu hơn 16 đến 32 lần các cycline phổ rộng (doxycycline và minocycline) trên các vi khuẩn gram âm thuộc hệ vi khuẩn ruột. Phổ kháng khuẩn hẹp cũng giúp giảm sự đề kháng của vi khuẩn [8].

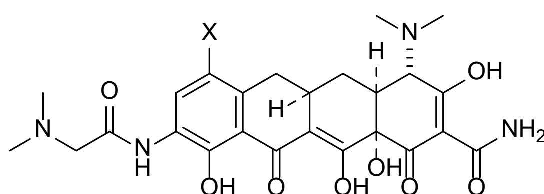
Tại C7 có gắn nhóm (*N*-methoxy-*N*-methylamino)methyl, tương tác với codon của mRNA đang gắn ở vị trí A của ribosome (Hình 5.8.13). Liên kết mới này giúp cải thiện ái lực của sarecycline trên phức hợp ribosome-mRNA, cũng như khả năng ức chế tRNA tham gia gắn kết.



Hình 5.8.13. Sarecycline và cấu trúc tinh thể tia X của sarecycline (SAR) và ribosome 70S [9]

8.3.2. Glycylcycline

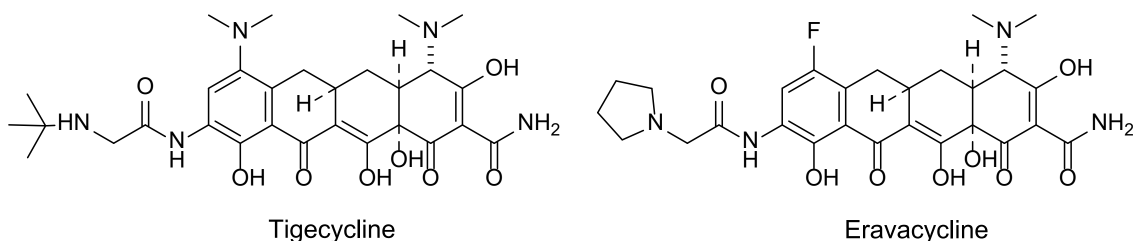
Glycylcycline là một nhóm tetracycline có gắn nhóm 9-glycylamido. 9-(Dimethylglycylamido)minocycline và 9-(dimethylglycylamido)-6-demethyl-6-deoxytetracycline là 2 hợp chất đầu tiên thuộc nhóm glycylcycline được tổng hợp và khảo sát hoạt tính kháng khuẩn, tuy nhiên 2 chất này không được sử dụng trong lâm sàng [17].



X = $N(CH_3)_2$ 9-(Dimethylglycylamido)minocycline
X = H 9-(Dimethylglycylamido)-6-demethyl-6-deoxytetracycline

Hình 5.8.14. Cấu trúc hai hợp chất glycylcycline đầu tiên

Nhiều sự thay đổi cấu trúc tiếp theo đã cho ra đời tigecycline (FDA-2005) và gần đây là evaracycline (FDA-2018) đang được sử dụng trong điều trị.

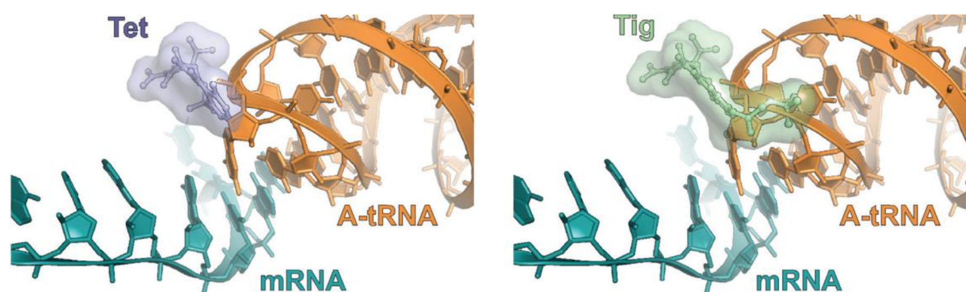


Hình 5.8.15. Tigecycline và eravacycline

Tigecycline: 9-(*tert*-butylglycylamido)minocycline

- Là một glycylcycline dùng qua đường tiêm tĩnh mạch (IV), tigecycline được thiết kế để vượt qua những cơ chế đề kháng quan trọng của vi khuẩn. Kháng sinh này không bị ảnh hưởng bởi những cơ chế đề kháng như các cơ chế bảo vệ ribosome, bơm kháng thuốc, sự biến đổi đích tác động [2].

- Tigecycline gắn với tiểu đơn vị 30S của ribosome với ái lực cao gấp 5 lần so với tetracycline thế hệ trước. Cấu trúc tinh thể tia X cho thấy so với tetracycline, nhóm 9-*t*-butylglycylamido của tigecycline làm tăng cản trở không gian và ngăn A-tRNA gắn vào ribosome hiệu quả hơn (Hình 5.8.16).



Hình 5.8.16. So sánh vị trí gắn kết của tetracycline (Tet) và tigecycline (Tig). Nhóm 9-*t*-butylglycylamido trùng lấp với một phần của A-tRNA [10].

- Phổ kháng khuẩn bao gồm những chủng gram dương đề kháng với các tetracycline đời trước như Streptococcus pneumoniae đề kháng penicillin, Staphylococcus aureus kháng methicillin (MRSA), Staphylococcus epidermidis kháng methicillin (MRSE), *Enterococcus* kháng vancomycin (VRE). Trên vi khuẩn gram âm, tigecycline có hoạt tính được cải thiện trên các chủng *Citrobacter freundii, Escherichia coli, Enterobacter cloacae, Klebsiella, Salmonella, Serratia marcescens và Shigella*. Tigecycline và minocycline có hoạt tính trên *Acinetobacter*. Tigecycline hiệu quả hơn các tetracycline cũ trên vi khuẩn yếm khí như *Bacteroides fragilis* và *Propionibacterium acnes* [11].

Như đã đề cập ở phần 6, trong một báo cáo năm 2019, các nhà khoa học đã tìm thấy enzyme TetX3 và TetX4 có khả năng bất hoạt tigecycline ở nhiều chủng vi khuẩn *Enterobacteriaceae* và *Acinetobacter.* Sự hiện diện của một trong hai enzyme này làm tăng MIC của tigecycline lên 64-128 lần ở *E. coli, K. pneumoniae* và *A. baumannii* [12].

Eravacycline: 7-fluoro-9-pyrrolidinoacetamido-6-demethyl-6-deoxytetracycline

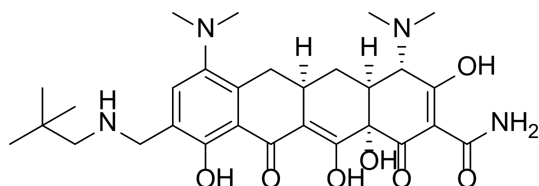
- Eravacycline là một glycylcycline được tổng hợp toàn phần, là kết quả của nghiên cứu SAR của nhóm dẫn xuất thế ở C9 của 7-fluoro-6-demethyl-6-deoxytetracycline (gọi tắt là fluorocycline).

- Phổ hoạt tính rộng và mạnh trên nhiều chủng vi khuẩn gram âm bao gồm *Enterobacteriaceae* tiết beta-lactamase và *Acinetobacter*. Eravacycline cũng có hoạt tính trên nhiều loại vi khuẩn gram dương như MRSA, VRE và cả những loài vi sinh vật yếm khí như *Bacteroides* [13,14].

- Khi so sánh với tigecycline, eravacycline có hoạt lực mạnh hơn 4-16 lần trên *S. aureus, E. faecalis, E. coli* và *A. baumannii*. Hơn nữa, eravacycline hầu như không bị ảnh hưởng bởi các cơ chế đề kháng tetracycline như bơm kháng thuốc, protein bảo vệ ribosome. Cần lưu ý là enzyme TetX3 và TetX4 có khả năng bất hoạt eravacycline [15].

- Sử dụng bằng đường tiêm IV.

8.3.3. Aminomethylcycline



Hình 5.8.17. Omadacycline

Omadacycline: 7-dimethylamino-9-*neo*-pentylaminomethyl-6-demethyl-6-deoxy-tetracycline.

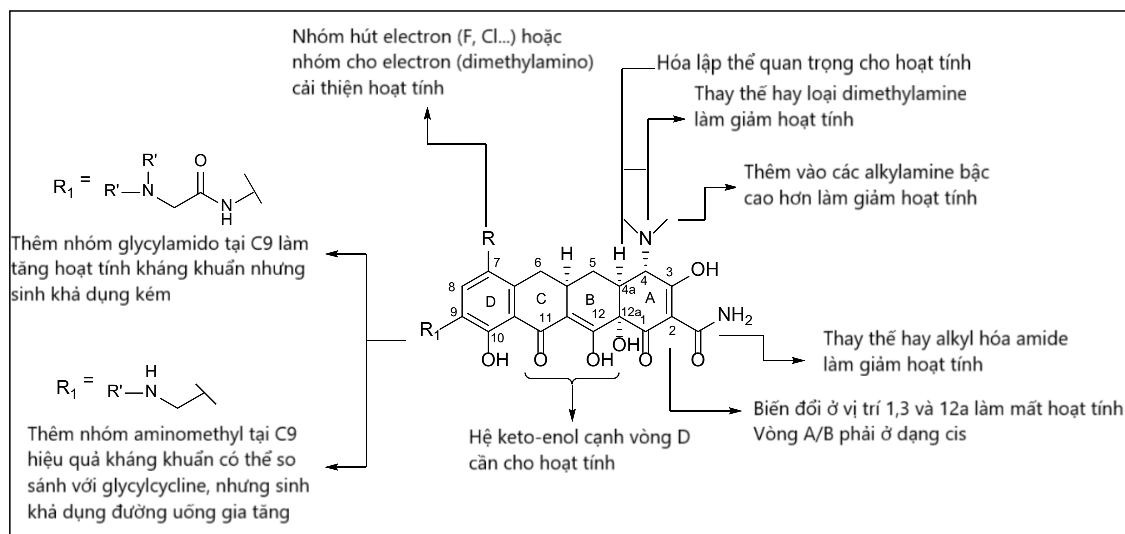
- Kháng sinh aminomethylcycline mới (dạng muối dễ tan omadacycline tosylate) sử dụng 1 lần/ngày cả đường uống lẫn đường tiêm IV để điều trị nhiễm trùng da cấp tính [acute bacterial skin and skin structure infection (ABSSSI)] và viêm phổi do vi khuẩn mắc phải trong cộng đồng [community-acquired bacterial pneumonia (CABP)].

- Là dẫn chất của minocycline, omadacycline có cấu trúc tương tự tigecycline với 1 nhóm alkylaminomethyl thay cho nhóm glycylamido tại C9. Omadacycline có phổ kháng khuẩn rộng gram âm, gram dương, ái khí, yếm khí và vi khuẩn không điển hình; hiệu quả trên những vi khuẩn đề kháng bằng cách tạo bơm kháng thuốc và tạo protein bảo vệ ribosome.

- Omadacycline có một vai trò tiềm năng như là một phần của phối hợp kháng sinh trong điều trị bệnh nhân bị nhiễm trùng do vi khuẩn gram dương kháng kháng sinh và đa kháng (bao gồm MRSA) và các mầm bệnh gram âm.

- Việc thế tại C9 nhóm 1 nhóm aminomethyl cung cấp nhiều lợi điểm so với nhóm glycylamido hiện diện trong tigecycline và eravacycline; omadacycline có chứa 1 nhóm *neo*-pentyl alkyl hóa nhánh aminomethyl thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh, có thể dùng đường uống, tỉ lệ gắn với protein huyết thanh thấp và sinh khả dụng tốt. Ngoài ra, omadacycline không gây buồn nôn và nôn như các glycylcycline [16].

9. QUAN HỆ CẤU TRÚC - TÁC DỤNG



Hình 5.8.18. Những nét chính về quan hệ cấu trúc - tác dụng của kháng sinh họ tetracycline [16].

10. TÁC DỤNG PHỤ - ĐỘC TÍNH

Ngoài những tác dụng phụ đã được đề cập (vàng răng, phototoxicity và tổn thương thận với những thuốc quá hạn), các tetracycline còn gây nôn mửa, buồn nôn, tiêu chảy và vài tác dụng trên thần kinh trung ương (chóng mặt, ngầy ngật). Tiêm IV nhanh hay kéo dài có thể dẫn đến viêm tĩnh mạch.

Các tetracycline không phân biệt tốt giữa ribosome 70S của vi khuẩn với ribosome 80S ở động vật hữu nhũ, vì vậy ở liều cao hay tình trạng đặc biệt (ví dụ dùng IV trong suốt thai kỳ), những thuốc này thể hiện một tác dụng chống đồng hóa đáng kể. Điều này có thể dẫn đến tổn thương thận và gan trầm trọng. Trong trường hợp suy thận nặng, liều cao tetracycline có thể dẫn đến tăng urê huyết.

Ngoài ra các tác nhân cảm ứng sự chuyển hóa của cytochrome P450 (ví dụ rifampin, barbiturate và carbamazepine) làm gia tăng sự chuyển hóa của tetracycline (đặc biệt doxycycline), vì vậy liều tetracycline cần được điều chỉnh trong những trường hợp này [2].

Câu hỏi tự lượng giá

1. Giải thích vì sao các tetracycline mới bao gồm cả glycylcycline và aminomethylcycline trong cấu trúc không chứa OH lẫn CH_3 ở vị trí C6?
2. Hãy nêu 2 vị trí trên khung tetracycline đang được quan tâm để tạo những tetracycline mới vượt qua được sự đề kháng của vi khuẩn và gia tăng hoạt tính kháng khuẩn?

Tài liệu tham khảo

1. Beale JM. Antibacterial Antibiotics, In: Beale JH, Blook JM, editors. Wilson and Griswold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry. 12th ed. United States. Lippincott Williams & Wilkins, 2011. pp.301-308.
2. Gentry EJ. Antibiotics and Antimicrobial Agents. In: Lemke TL, Williams DA, Roche VF, Zito SW, editors. Foye's Principles of Medicinal Chemistry. 7th ed. United States: Lippincott Williams & Wilkins; 2013. pp.1113-1116.
3. A.G.Huesgen, Analysis of degradation products of doxycycline in solution exposed to light and elevated temperatures using the Agilent 1200 Infinity Series High Dynamic Range Diode ArrayDetector Impurity Analyzer System. Small Molecule Pharmaceuticals & Generics. Agilent Technologies, Inc., 2014.
4. Chopra I, Roberts M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. Microbiol Mol Biol Rev. 2001 Jun; 65(2):232-260.

5. Nguyen F, Starosta AL, Arenz S, Sohmen D, Dönhöfer A, Wilson DN. Tetracycline antibiotics and resistance mechanisms. Biol Chem. 2014 May;395(5):559-75. Brodersen DE, Clemons WN Jr., Carter AP, et al. Cell 2000; 103:1143-1154).
6. Nguyen F, Starosta AL, Arenz S, Sohmen D, Dönhöfer A, Wilson DN. Tetracycline antibiotics and resistance mechanisms. Biol Chem. 2014 May; 395(5):559-575.
7. Gasparrini AJ, Markley JL, Kumar H, Wang B, Fang L, Irum S, Symister CT, Wallace M, Burnham CD, Andleeb S, Tolia NH, Wencewicz TA, Dantas G. Tetracycline-inactivating enzymes from environmental, human commensal, and pathogenic bacteria cause broad-spectrum tetracycline resistance. Commun Biol. 2020 May; 3(1):241.
8. Zhanel G, Critchley I, Lin LY, Alvandi N. Microbiological Profile of Sarecycline, a Novel Targeted Spectrum Tetracycline for the Treatment of Acne Vulgaris. Antimicrob Agents Chemother. 2018 Dec 21; 63(1):e01297-18.
9. Batool Z., Lomakin I.B., Polikanov Y.S., Bunick C.G. Sarecycline interferes with tRNA accommodation and tethers mRNA to the 70S ribosome. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2020; 117:20530-20537.
10. Nguyen F, Starosta AL, Arenz S, Sohmen D, Dönhöfer A, Wilson DN. Tetracycline antibiotics and resistance mechanisms. Biol Chem. 2014 May; 395(5):559-575.
11. Greer ND. Tigecycline (Tygacil): the first in the glycylcycline class of antibiotics. Proc (Bayl Univ Med Cent). 2006 Apr; 19(2):155-161.
12. He T, Wang R, Liu D, Walsh TR, Zhang R, Lv Y, et al. Emergence of plasmid-mediated high-level tigecycline resistance genes in animals and humans. Nat Microbiol. 2019 Sep; 4(9):1450-1456.
13. Lee YR, Burton CE. Eravacycline, a newly approved fluorocycline. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Oct; 38(10):1787-1794.
14. Sutcliffe JA, O'Brien W, Fyfe C, Grossman TH. Antibacterial activity of eravacycline (TP-434), a novel fluorocycline, against hospital and community pathogens. Antimicrob Agents Chemother. 2013 Nov; 57(11):5548-5558.
15. Xiao XY, Hunt DK, Zhou J, Clark RB, Dunwoody N, Fyfe C et al. Fluorocyclines. 1. 7-fluoro-9-pyrrolidinoacetamido-6-demethyl-6-deoxytetracycline: a potent, broad spectrum antibacterial agent. J Med Chem. 2012 Jan 26; 55(2):597-605.
16. Zhanel GG, Esquivel J, Zelenitsky S, Lawrence CK, Adam HJ, Golden A et al. Omadacycline: A Novel Oral and Intravenous Aminomethylcycline Antibiotic Agent. Drugs. 2020 Feb; 80(3):285-313.
17. Zhanel GG, Homenuik K, Nichol K, Noreddin A, Vercaigne L, Embil J, Gin A, Karlowsky JA, Hoban DJ. The glycylcyclines: a comparative review with the tetracyclines. Drugs. 2004; 64(1):63-88.

5.9. NHÓM PLEUROMUTILIN

Các hoạt chất được đề cập

Lefamulin

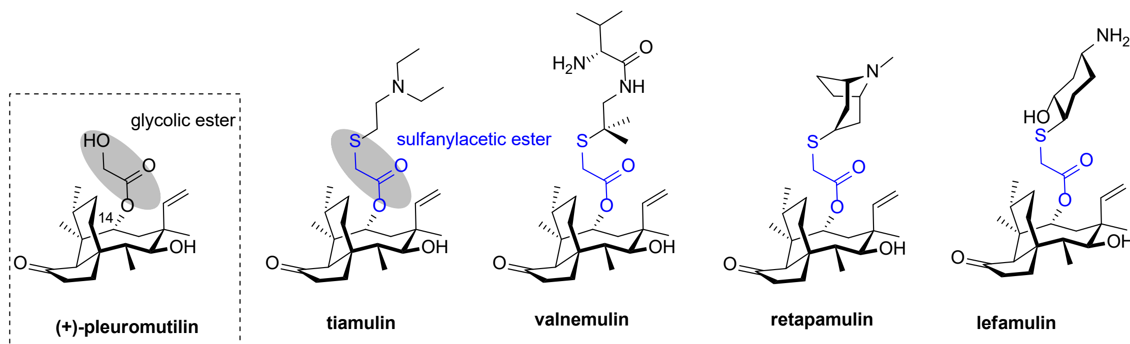
Retapamulin

1. GIỚI THIỆU

(+)-Pleuromutilin được phân lập từ những năm 1950 từ một loại nấm ăn được - *Pleurotus mutilus* (ngày nay được gọi là *Clitophilus scyphoides*). Hoạt chất này có tác dụng ức chế vi khuẩn gram dương. Mặc dù không được sử dụng trực tiếp làm thuốc kháng sinh, (+)-pleuromutilin cung cấp khung cấu trúc cho các thuốc kháng sinh bán tổng hợp: tiamulin, valnemulin (sử dụng trong thú y); retapamulin (sử dụng ngoài da ở người). Bước ngoặt quan trọng của nhóm kháng sinh pleuromutilin được đánh dấu bởi sự ra đời của **lefamulin** (được FDA cấp phép lưu hành năm 2019). Lefamulin là thuốc đầu tiên trong nhóm có thể sử dụng được đường uống và tiêm tĩnh mạch ở người [1].

2. ĐẶC ĐIỂM CẤU TRÚC

Nhóm pleuromutilin có cấu trúc chung là hệ vòng tricyclic gồm một vòng 5, một vòng 6 và một vòng 8. Cấu trúc này được gọi là **mutilin.** Ở vị trí C14 của (+)-pleuromutilin có gắn mạch nhánh glycolic ester. Các thuốc bán tổng hợp có nhóm glycolyl được thay bằng cấu trúc sulfanylacetyl, và chỉ khác nhau ở nhóm thế trên nhóm thioether (-S-R) [2].



Hình 5.9.1. Các kháng sinh nhóm pleuromutilin

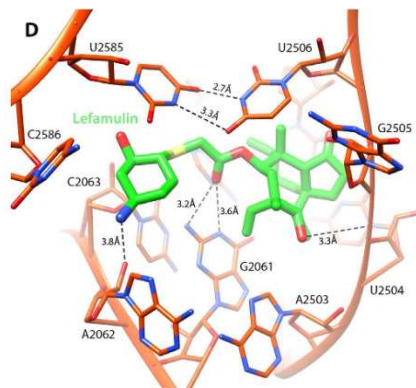
3. CƠ CHẾ KHÁNG KHUẨN - PHỔ KHÁNG KHUẨN

Kháng sinh nhóm pleuromutilin có đích tác động là trung tâm xúc tác (peptidyl transferase center) định vị trên tiểu đơn vị ribosome 50S (r50S) của vi khuẩn, nằm giữa vị trí A và P, ức chế chọn lọc quá trình dịch mã tổng hợp protein của vi khuẩn (các pleuromutilin không gắn lên ribosome của người).

Các cấu trúc tinh thể của r50S đồng kết tinh với các pleuromutilin cho thấy: nhân mutilin gắn ở vị trí A chủ yếu nhờ vào liên kết kỵ nước và Van der Waals. Trong khi đó mạch nhánh C14 hướng sang vị trí P. Sự gắn kết của thuốc làm cản trở các tRNA gắn vào vị trí A và P.

Cấu trúc tinh thể của r50S đồng kết tinh với lefamulin cho thấy thuốc này tạo các liên kết hydro với các nucleotide của rRNA 23S của r50S nhờ vào nhóm carbonyl của mạch nhánh C14, nhóm hydroxyl ở C11 và nhóm amine nằm trên mạch nhánh C14 (Hình 5.9.2).

Ngoài ra, sự gắn kết của lefamulin lên r50S làm thay đổi cấu dạng của r50S (induced-fit rearrangement) tạo nên liên kết mới giữa U2585 và U2506 làm bền cấu trúc phức hợp r50S-lefamulin. Điều này góp phần giải thích khả năng gắn kết chặt hơn của lefamulin lên r50S so với các pleuromutilin khác [3].



Hình 5.9.2. Cấu trúc tinh thể của r50S của *S. aureus* đồng kết tinh với lefamulin [3]

4. CƠ CHẾ ĐỀ KHÁNG CỦA VI KHUẨN [1]

Vi khuẩn đề kháng các pleuromutilin bằng cách đột biến trên phần rRNA 23S hoặc trên phần protein cấu thành r50S, làm thay đổi cấu trúc và giảm ái lực của thuốc lên r50S. Một cơ chế đề kháng tương tự nhóm oxazolidinone là đột biến gen *cfr* sản xuất methytransferase, methyl hóa nucleotide của rRNA 23S và gây cản trở không gian ngăn thuốc gắn lên đích tác dụng.

Điều quan trọng là vị trí gắn của các pleuromutilin không giống như các họ kháng sinh khác cũng có đích tác dụng là r50S nên không gây đề kháng chéo.

5. PHỔ KHÁNG KHUẨN

Retapamulin được nghiên cứu để sử dụng điều trị các nhiễm trùng ngoài da (đặc biệt là *S. aureus* và *S. pyogenes*) trong tình hình đề kháng thuốc ngày càng tăng. Retapamulin thể hiện hoạt tính kháng khuẩn cao hơn so với các kháng sinh dùng ngoài da hiện hành như muciprocin, fusidic acid và bacitracin [4].

Bảng 5.9.1. MIC_{90} của retapamulin với muciprocin, fusidic acid và bacitracin trên các vi khuẩn thường gặp gây nhiễm trùng da [4]

Vi khuẩn	**MIC_{90} (mg/L)**			
	Retapamulin	*Muciprocin*	*Fusidic acid*	*Bacitracin*
MSSA	0.12	0.5	0.5	> 16
MRSA	0.12	32	0.5	> 16
S. pyogenes	0.016	0.5	16	2

Lefamulin có hoạt tính kháng khuẩn tốt trên staphylococci và streptococci. Lefamulin có hoạt tính tốt trên *S. aureus* và *S. pneumoniae* kể cả các chủng kháng thuốc (MRSA) và đa kháng thuốc (MDR, XDR). Trên vi khuẩn gram âm, lefamulin không có hoạt tính trên Enterobacteriaceae*, Escherichia coli, Klebsiella pneumonia* và *Pseudomonas aeruginosa;* lefamulin có hoạt tính trên *Haemophilus* spp. và *Moraxella catarrhalis*.

Lefamulin còn có tác dụng tốt trên các vi khuẩn gây viêm phổi *(Legionella pneumophila, Chlamydophila pneumoniae, Mycoplasma pneumoniae)* và vi khuẩn gây các bệnh lây truyền đường sinh dục *(Mycoplasma genitalium, Neisseria gonorrhoeae, Chlamydophila trachomatis)* [1].

Bảng 5.9.2. MIC_{90} của lefamulin, ceftriaxone và moxifloxacin [1]

Vi khuẩn	**MIC_{90} (mg/L)**		
	Lefamulin	*Ceftriaxone*	*Moxifloxacin*
MSSA	0.12	4	≤ 0.06
MRSA	0.12	> 32	> 4
S. aureus MDR/XDR	0.12	> 32	> 4
S. pneumoniae (nhạy cảm với penicillin)	0.12	0.06	0.25
S. pneumoniae MDR/XDR	0.12	2	0.25
E. coli	32	> 16	0.5
K. pneumoniae	> 32	> 16	0.5
H. infuenzae	1	≤ 0.06	0.03
Moraxella catarrhalis	0.12	0.5	0.06

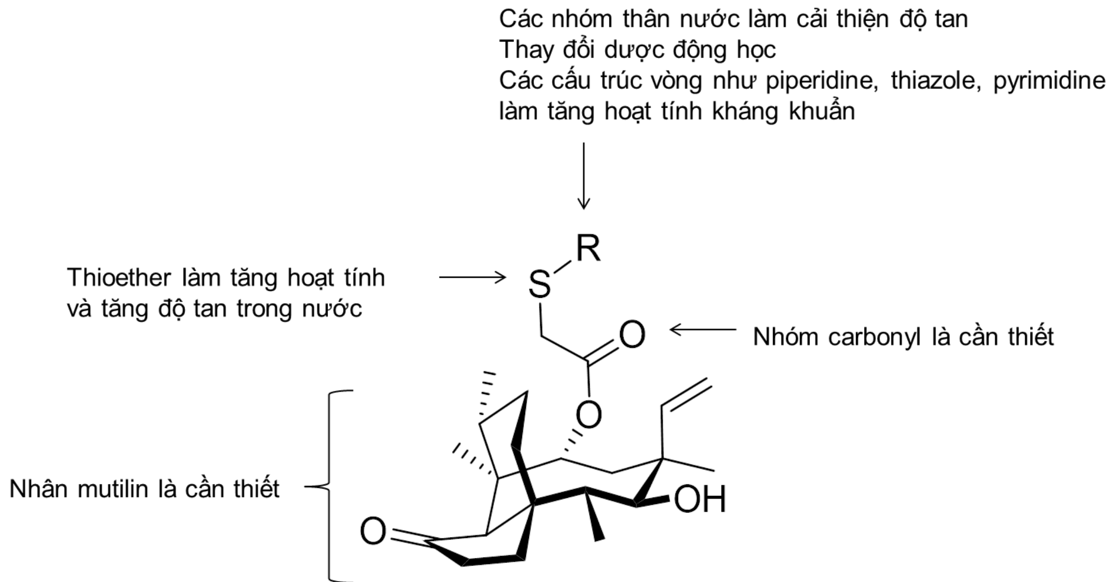
6. LIÊN QUAN CẤU TRÚC - TÁC DỤNG [1]

- Nhân mutilin là cần thiết để tạo tương tác kỵ nước với trung tâm xúc tác của r50S;

- Nhóm carbonyl của mạch nhánh C14 là cần thiết để tạo liên kết hydro với r50S;

- Nhóm thioether làm tăng hoạt tính kháng khuẩn và cải thiện độ tan trong nước;

- Nhóm R có thể thay đổi và ảnh hưởng đến hoạt tính, dược động học, độ tan của thuốc. Các cấu trúc vòng làm tăng hoạt tính nhưng các nhóm R quá cồng kềnh làm giảm hoạt tính.



Hình 5.9.3. Liên quan cấu trúc - tác dụng của kháng sinh nhóm pleuromutilin

7. ỨNG DỤNG TRONG TRỊ LIỆU

Retapamulin được sử dụng dưới dạng thuốc mỡ bôi ngoài da để điều trị bệnh chốc lở (impetigo) và một số nhiễm trùng da ở nơi khâu vết thương, trầy xước nhỏ gây ra bởi vi khuẩn MSSA và *S. pyogenes* ở người lớn và trẻ em từ 9 tháng tuổi trở lên [5].

Lefamulin được bào chế dạng muối acetate, có thể sử dụng cả đường uống và đường tiêm, có chỉ định trong điều trị viêm phổi mắc phải cộng đồng gây ra bởi vi khuẩn nhạy cảm với thuốc: *S. pneumoniae, MSSA, Haemophilus influenzae, Legionella pneumophila, Mycoplasma pneumoniae, và Chlamydophila pneumoniae* [6].

8. TÁC DỤNG PHỤ - ĐỘC TÍNH [1,6]

Tác dụng phụ thường gặp khi sử dụng lefamulin là đau đầu, buồn nôn và tiêu chảy. Phản ứng nơi tiêm và viêm tĩnh mạch thường gặp hơn khi so sánh với vancomycin.

Kéo dài khoảng QT

Lefamulin có thể làm kéo dài khoảng QT nên chống chỉ định đối với bệnh nhân có tiền sử loạn nhịp tim, xoắn đỉnh, bệnh nhân đang sử dụng thuốc khác làm kéo dài khoảng QT. Khi bắt buộc phải dùng thuốc ở các bệnh nhân này và ở các trường hợp có khả năng làm tăng nồng độ thuốc trong máu như suy thận, suy gan, cần theo dõi điện tâm đồ.

Độc tính trên thai nhi

Các nghiên cứu trên động vật cho thấy lefamulin có thể gây hại cho thai nhi, cho nên phụ nữ được khuyến cáo sử dụng các biện pháp tránh thai khi đang dùng thuốc và cho đến 2 ngày sau liều cuối cùng.

Câu hỏi tự lượng giá

Vị trí nào trên cấu trúc (+)-pleuromutilin có thể thay đổi nhằm tăng hoạt tính kháng khuẩn và cải thiện dược động học?

Danh mục từ viết tắt

MDR: multiple-drug resistant

MRSA: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

MSSA: methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*

r50S: tiểu đơn vị ribosome 50S

XDR: extensively drug-resistant

Tài liệu tham khảo

1. Zhanel GG, Deng C, Zelenitsky S, Lawrence CK, Adam HJ, Golden A, et al. Lefamulin: A Novel Oral and Intravenous Pleuromutilin for the Treatment of Community-Acquired Bacterial Pneumonia. Drugs. 2021 Feb; 81(2):233-256.
2. Goethe O, Heuer A, Ma X, Wang Z, Herzon SB. Antibacterial properties and clinical potential of pleuromutilins. Nat Prod Rep. 2019 Jan 1; 36(1):220-247.
3. Eyal Z, Matzov D, Krupkin M et al. A novel pleuromutilin antibacterial compound, its binding mode and selectivity mechanism. Sci Rep. 2016 Dec; 6:39004.
4. Rittenhouse S, Biswas S, Broskey J, McCloskey L, Moore T, Vasey S, et al. Selection of retapamulin, a novel pleuromutilin for topical use. Antimicrob Agents Chemother. 2006 Nov; 50(11):3882-3885.
5. Daum R, Kar S, Kirkpatrick P. Retapamulin. *Nat Rev Drug Discov*, 2007 Nov; 6:865-866.
6. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2019/211672s000, 211673s000lbl.pdf (truy cập ngày 31/03/2021).

5.10. SULFAMIDE KHÁNG KHUẨN - TRIMETHOPRIM

Các hoạt chất được đề cập

Sulfanilamide	Sulfisoxazole
Sulfadiazine	Sulfasalazine
Sulfacetamide	Trimethoprim
Sulfamethoxazole	

1. SULFAMIDE KHÁNG KHUẨN

1.1. Giới thiệu

Đặc tính kháng khuẩn của sulfamide đã được khám phá từ giữa năm 1930. Prontosil rubrum, một phẩm nhuộm màu đỏ, là một trong những phẩm nhuộm được khảo sát bởi Gerhard Domagk (Bayer - Đức) với niềm tin là chất này có thể được hấp thu một cách chọn lọc bởi một số vi khuẩn gây bệnh và không được hấp thu bởi tế bào người, do đó có thể tác động chọn lọc để tiêu diệt vi khuẩn. Thực vậy, prontosil tỏ ra hoạt tính *in vivo* chống lại nhiễm trùng *streptococci* ở chuột, nhưng một cách kỳ lạ phẩm nhuộm này không có hoạt tính *in vitro* trên vi khuẩn. Sau đó, dẫn xuất amide của *p*-aminobenzensulfonic acid (còn gọi là sulfanilamide) được phát hiện, đây là một sản phẩm chuyển hóa không màu của protonsil, được tạo thành do quá trình khử tại gan. Chính sulfanilamide được tạo thành *in vivo* tạo ra tác dụng kháng khuẩn, vì vậy prontosil rubrum chính là tiền dược của sulfanilamide [1].

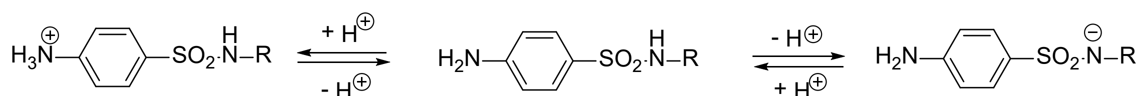
Protonsil Rubrum — Gan [H] → Sulfanilamide

Hình 5.10.1. Sự chuyển hóa protonsil rubrum tại gan thành sulfanilamide

Sự khám phá hoạt tính kháng khuẩn của sulfanilamide đã mở ra kỷ nguyên kháng sinh hiện đại và Domagk được giải Nobel Y học năm 1939. Trụ cột một thời trong trị liệu kháng khuẩn, sulfamide hiện nay ngày càng ít được sử dụng và chỉ là một nhóm thuốc nhỏ, do xuất hiện sự đề kháng của vi khuẩn và sự ra đời nhiều họ kháng sinh khác.

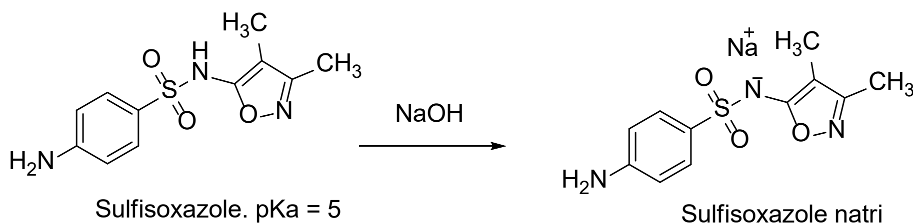
1.2. Tính chất lý hóa

Sulfamide (hay còn gọi là sulfonamide) là những hợp chất lưỡng tính: tính base yếu do cấu trúc aniline, tạo muối với acid mạnh; tính acid yếu ($pK_a \sim 10.4$) từ nhóm SO_2N-H (do hiệu ứng rút điện tử mạnh của nhóm SO_2), hòa tan trong hydroxide kiềm.



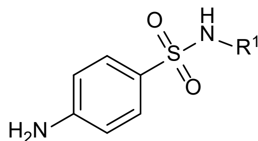
Hình 5.10.2. Sự proton hóa và deproton hóa sulfamide

Với những nhóm thế R trên nitrogen của nhóm chức sulfonamide là dị vòng thơm hút electron, pK_a của NH giảm bằng pK_a của nhóm -COOH của PABA (*p*-aminobenzoic acid) (pK_a = 4.9) (Bảng 5.10.1). Sự tăng tính acid (pK_a giảm) không những làm gia tăng hoạt tính kháng khuẩn mà còn làm tăng đáng kể độ tan trong nước của sulfamide ở điều kiện sinh lý. Ví dụ sulfisoxazole, một trong những sulfamide hiện còn sử dụng, có pK_a khoảng 5.0 [1,2].



Hình 5.10.3. Sulfisoxazole và dạng muối natri

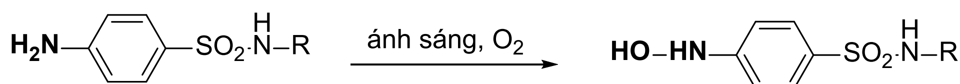
Bảng 5.10.1. Cấu trúc và giá trị pK_a của một vài sulfamide hiện còn sử dụng, so với sulfanilamide



Hoạt chất	R^1	pK_a
Sulfanilamide	H	10.4
Sulfamethoxazole	N O CH_3	5.7
Sulfadiazine	N N	6.4
Sulfisoxazole	CH_3 O N CH_3	5.0
Sulfacetamide	$-COCH_3$	5.4

Sulfamide nói chung khó tan trong nước, nhưng dễ tan trong dung môi phân cực như acetone, tan nhẹ đến khó tan trong dung môi không phân cực. Tính tan trong nước kém dẫn đến việc kết tinh các sulfamide cổ điển trong nước tiểu gây sỏi niệu và đưa đến tổn thương thận bởi vì những phân tử này không bị ion hóa ở pH nước tiểu. Người ta vẫn thường khuyên uống nhiều nước khi dùng sulfamide để tránh bị sỏi niệu, tuy nhiên độc tính này không phổ biến đối với các sulfamide hiện còn đang sử dụng vì chúng tạo dạng muối natri, dạng này ít nhất được ion hóa một phần và vì vậy gia tăng độ tan ở pH của nước tiểu. Tuy vậy các sulfamide này được dung nạp kém khi dùng đường tiêm, bởi vì những muối này ăn mòn mô.

Sulfamide thường ở dạng bột trắng hoặc gần như trắng. Nhóm amine thơm bậc nhất có thể bị oxy hóa khi tiếp xúc với ánh sáng nên cần bảo quản thuốc nhóm sulfamide tránh ánh sáng [3].



Hình 5.10.4. Sự oxy hóa sulfamide khi tiếp xúc với ánh sáng

1.3. Kiểm nghiệm

- Định tính:

+ Phổ IR, phổ UV, sắc ký lớp mỏng, điểm chảy.

+ Các phản ứng hóa học dùng để định tính sulfamide kháng khuẩn dựa trên nhóm amine thơm bậc nhất: phản ứng diazo hóa, azoic hóa; phản ứng ngưng tụ với các aldehyde [với furfural/CH_3COOH, với *p*-dimethylaminobenzaldehyde (PDAB)] [3].

- Kiểm tinh khiết:

+ pH, màu sắc của dung dịch.

+ Tạp liên quan: nguyên liệu đầu, chất trung gian trong quá trình tổng hợp được kiểm bằng sắc ký lỏng.

- Định lượng:

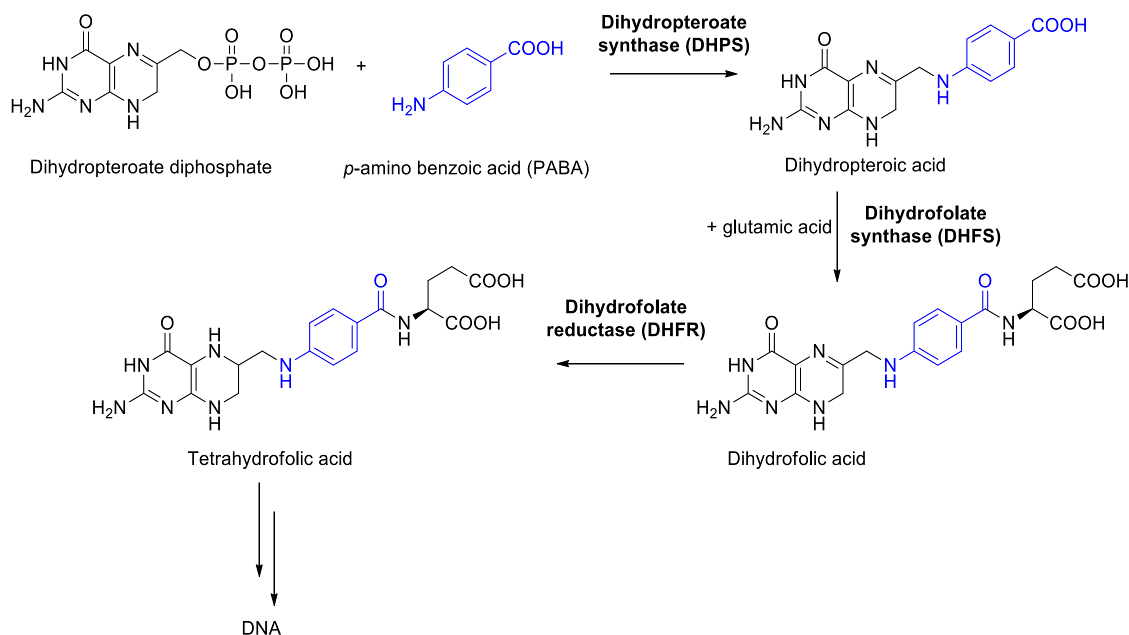
+ Phương pháp diazo hóa với dung dịch chuẩn độ là $NaNO_2$.

+ Phương pháp môi trường khan với dung dịch chuẩn độ là hydroxide.

1.4. Cơ chế tác dụng

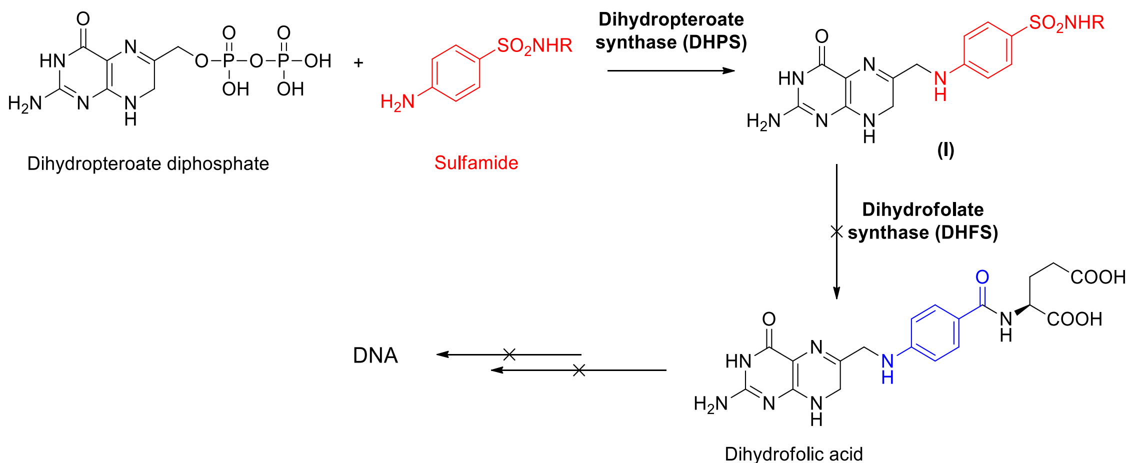
Ở liều sử dụng, sulfamide tác dụng như một chất kìm khuẩn. Chúng ức chế enzyme **dihydropteroate synthase (DHPS),** một enzyme quan trọng cho sự sinh tổng hợp

tetrahydrofolic acid - dạng hoạt động của folic acid - cần thiết cho sinh tổng hợp DNA, RNA và một số amino acid.



Hình 5.10.5. Quá trình sinh tổng hợp tetrahydrofolic acid

Sulfamide có khả năng ức chế DHPS do sự tương đồng cấu trúc với PABA - cơ chất của DHPS, nên cạnh tranh gắn với enzyme tại vị trí xúc tác. Nhóm sulfonamide có thể tạo liên kết hydro với cùng một amino acid của DHPS (serine) như nhóm carboxylate của PABA. DHPS "nhận nhầm" sulfamide là cơ chất và xúc tác phản ứng giữa tạo sản phẩm chuyển hóa sai (I), chất này không thể thực hiện các phản ứng tiếp theo, gây ức chế enzyme. Do vậy sulfamide còn được xếp loại như chất chống chuyển hóa.



Hình 5.10.6. Cơ chế tác dụng của sulfamide

Thực vậy, công hiệu kháng khuẩn của sulfamide có thể bị đảo nghịch khi thêm một lượng đáng kể PABA có trong thực phẩm, chế phẩm multivitamine, chất chuyển hóa của vài loại thuốc gây tê (như procaine) hay trong môi trường nuôi cấy. Hầu hết vi khuẩn nhạy cảm không thể hấp thu folic acid có sẵn trong môi trường và chuyển hóa thành tetrahydrofolic acid, mà phải tự tổng hợp từ PABA (Hình 5.10.5). Các vi khuẩn có thể hấp thu folic acid có sẵn trong môi trường thì đề kháng tự nhiên với sulfamide.

Ở người, do thiếu những enzyme cần thiết (bao gồm DHPS), folic acid phải được cung cấp từ thực phẩm. Do vậy sulfamide không tác động trên sự phát triển của tế bào người và có độc tính chọn lọc trên vi khuẩn.

1.5. Cơ chế đề kháng của vi khuẩn

- Đột biến thay đổi cấu trúc đích tác dụng: Cơ chế đề kháng sulfamide phổ biến nhất của vi khuẩn là đột biến gen mã hóa DHPS. Chỉ cần đột biến thay thế một vài amino acid trong khu vực gắn kết với sulfamide là có thể tạo ra enzyme đột biến có ái lực giảm rõ rệt với sulfamide [4].

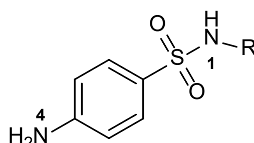
- Gia tăng sản xuất PABA.

- Thay đổi con đường chuyển hóa folic acid.

- Giảm tính thấm của thuốc vào bên trong tế bào vi khuẩn.

- Sản xuất bơm ngược [5].

1.6. Quan hệ cấu trúc - hoạt tính [6]



Hình 5.10.7. Cấu trúc chung của sulfamide kháng khuẩn

- Để có tác dụng kháng khuẩn, nhóm amine -NH_2 và nhóm sulfonamide phải ở vị trí *para*. Nhóm -NH_2 phải tự do, hoặc nếu được thế, nhóm thế phải được cắt *in vivo* để giải phóng nhóm -NH_2 (ví dụ, sulfasalazine).

- Vòng benzene phải nguyên vẹn, sự thế trên vòng benzene làm giảm hoặc mất hoạt tính kháng khuẩn.

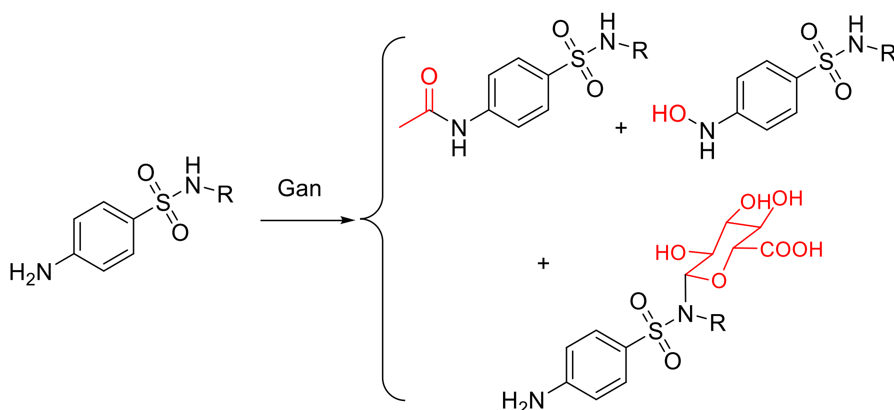
- Nghiên cứu SAR cho thấy nếu thay nhóm SO_2-NH_2 bằng nhóm SO_2-C_6H_4-*p*-NH_2, hoạt tính kháng khuẩn sẽ tương tự; ngược lại hoạt tính kháng khuẩn sẽ mất nếu thay bằng nhóm CO-NH_2 hay CO-C_6H_4-*p*-NH_2.

- Tại N1 chỉ được phép có một nhóm thế, nếu có hai nhóm thế hoạt tính kháng khuẩn sẽ giảm. Nhóm thế trên N1 làm thay đổi đặc điểm lý hóa và dược động học.

- Tùy thuộc nhóm thế R trên N-1, các sulfamide có hoạt tính kháng khuẩn ít nhiều khác nhau, thậm chí kháng ký sinh trùng. Sự thay đổi cấu trúc của các sulfamide hiện đang sử dụng trong lâm sàng chủ yếu là thay nhóm dị vòng thơm trên N1, vừa làm tăng độ tan, vừa làm tăng hoạt tính trên enzyme DHPS.

1.7. Dược động học

Dùng đường uống, các sulfamide hấp thu tốt qua dạ dày - ruột, phân phối tương đối rộng, được thải trừ bởi thận. Thuốc được gắn với protein huyết tương (sulfisoxazole 30-70%, sulfamethoxazole 70%), vì thế có thể đẩy những chất gắn với protein như bilirubine. Điều này làm cho sulfamide không được dùng cho phụ nữ mang thai giai đoạn cuối bởi vì chúng có thể gây ra vàng da trẻ sơ sinh. Sulfamide bị bất hoạt một phần tại gan do sự acetyl hóa và oxy hóa tại nhóm $-NH_2$, cũng như sự glucuronide hóa tại NH của nhóm sulfonamide [7].



Hình 5.10.8. Các chất chuyển hóa chính của các sulfamide

1.8. Ứng dụng trị liệu

Hàng nghìn sulfamide được đánh giá, nhưng chỉ một vài chất hiện còn sử dụng và thường phối hợp với những tác nhân khác.

- Sulfisoxazole, được dùng kết hợp với erythromycin. Sulfamide này có phổ kháng khuẩn *in vitro* rộng tương đối, đặc biệt chống lại vi khuẩn gram âm, nhưng công dụng lâm sàng bị giới hạn do sự đề kháng của vi khuẩn. Những vi khuẩn nhạy cảm bao gồm *Enterobacteriaceae (E. coli, Klebsiella, Proteus), Streptococcus pyogenes, Streptococcus pneumoniae* và *Haemophilus*.

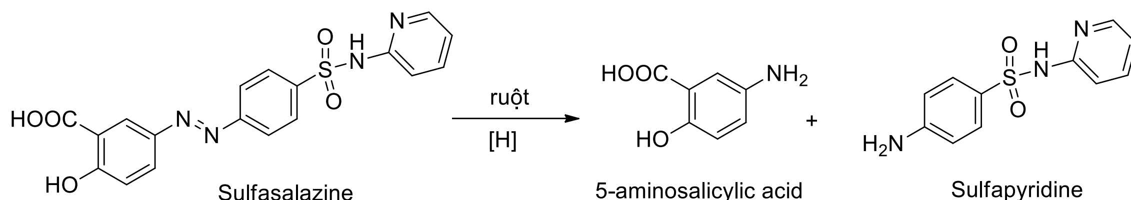
- Sulfamethoxazole thể hiện hoạt tính kháng khuẩn rộng với MIC thấp, được phối hợp với trimethoprim và được sử dụng phổ biến, có thể dùng trong điều trị nhiễm trùng đường tiết niệu, nhiễm trùng *Nocardia* spp.

- Kết hợp pyrimethamine và sulfadiazine được dùng để điều trị bệnh nhiễm ký sinh trùng Toxoplasma [8].

- Các sulfamide còn lại hiện không được dùng bằng đường toàn thân. Sulfadiazine được dùng ở dạng muối bạc, dùng ngoài trị bỏng, hiệu quả chống lại nhiều loại vi khuẩn, nấm, trong khi sulfacetamide được dùng nhỏ mắt để trị nhiễm trùng mắt, gây bởi vi khuẩn còn nhạy cảm.

Thực ra, tác dụng kháng khuẩn của sulfadiazine bạc là do ion bạc, còn sulfadizazine vào trong tế bào vi khuẩn rất ít. Vai trò chủ yếu của sulfadiazine là giải phóng từ từ ion bạc ra môi trường xung quanh để tránh tạo kết tủa với các anion (ví dụ, Cl^-) trong môi trường [9].

- Sulfasalazine nổi bật do đặc điểm mặc dù dùng đường uống nhưng thuốc này không hấp thu tại ruột, vì vậy đa số liều được đưa đến phần ruột xa. Tại đây, sulfasalazine (là một tiền dược) sẽ trải qua sự chuyển hóa khử bởi vi khuẩn trong ruột tạo thành các thành phần có hoạt tính là sulfapyridine và 5-aminosalicylic acid (Hình 5.10.9). Sự phóng thích 5-aminosalicylic acid (mesalamine), là mục tiêu của việc sử dụng thuốc này. Tác nhân này được dùng trong điều trị viêm ruột loét và bệnh Crohn. Việc dùng trực tiếp các salicylate gây kích ứng dạ dày [1].

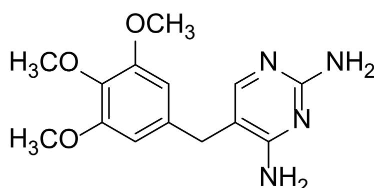


Hình 5.10.9. Sự hoạt hóa sulfasalazine thành 5-aminosalicylic acid và sulfapyridine

1.9. Tác dụng không mong muốn

Phản ứng dị ứng là phổ biến nhất, đỏ da (rash), nhạy cảm với ánh sáng và sốt do thuốc. Vấn đề ít phổ biến hơn là tổn thương gan và thận, thiếu máu huyết giải và những vấn đề về máu khác. Phản ứng dị ứng trầm trọng nhất nhưng hiếm gặp là hội chứng Stevens-Johnsons (ban đỏ, mụn nước đa dạng trầm trọng và loét màng nhày mắt, miệng, niệu đạo,…).

2. TRIMETHOPRIM



Hình 5.10.10. 2,4-Diamino-5-(3,4,5-trimethoxybenzyl)pyrimidine

2.1. Tính chất

Bột trắng, tan rất kém trong nước, tan kém trong ethanol và không tan trong chloroform hay ether. $pK_a = 6.7$. Sự proton hóa xảy tại 1 trong 2 nguyên tử nitrogen nội vòng.

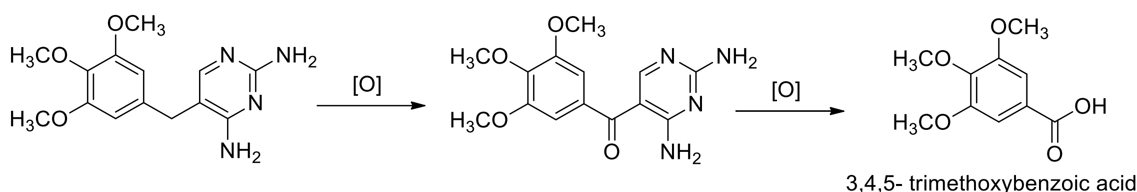
2.2. Kiểm nghiệm

- Định tính:

+ Điểm chảy, phổ IR.

+ Phổ UV: Trong dung dịch alcohol có 1 cực đại hấp thu tại 287 nm.

+ Dung dịch chế phẩm trong H_2SO_4 được xử lý với dung dịch permanganate kiềm và đun nóng. Sau đó thêm vào dung dịch formaldehyde, hỗn hợp được acid hóa với H_2SO_4. Sau khi đun lại, hỗn hợp được làm mát và lọc. Chloroform được thêm vào dịch lọc. Pha hữu cơ cho huỳnh quang xanh ở UV 365 nm. Phản ứng dựa trên sự oxy hóa phân hủy trimethoprim. Sản phẩm phát quang là 3,4,5-trimethoxybenzoic acid. Formaldehyde được thêm vào để khử permanganate thừa [3].



Hình 5.10.11. Sự oxy hóa phân hủy trimethoprim

- Định lượng:

+ Định lượng môi trường khan với dung dịch chuẩn độ perchloric acid.

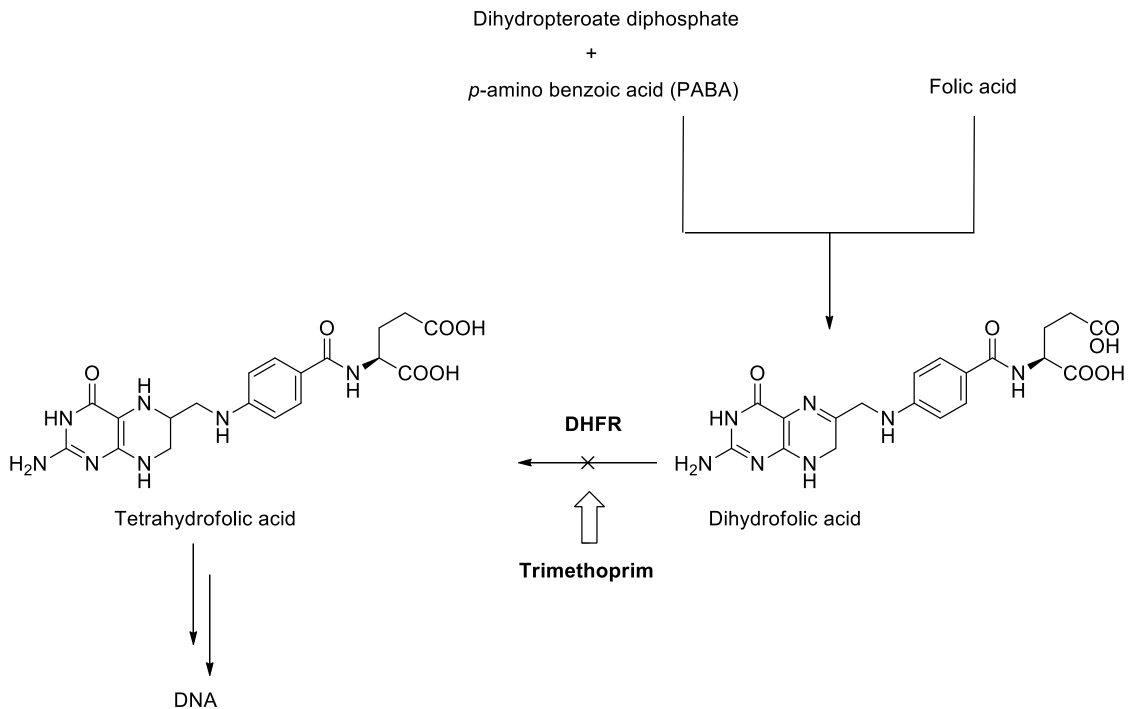
+ Định lượng bằng phép đo hấp thu UV.

2.3. Cơ chế tác động

Trong một bước xa hơn trên con đường tổng hợp tetrahydrofolic acid, enzyme dihydrofolate reductase (DHFR) khử dihydrofolic acid thành tetrahydrofolic acid (Hình 5.10.5).

Bên cạnh đó, ở người hay một số vi khuẩn, folic acid ngoại sinh phải được khử từng bước thành dihydrofolic acid và sau đó thành tetrahydrofolic acid bởi DHFR (Hình 5.10.12). Sự ức chế enzyme thiết yếu này đã được nghiên cứu rộng rãi trong nỗ lực tìm kiếm những thuốc kháng ung thư bằng cách gây thiếu hụt nguyên liệu tổng hợp DNA cần thiết cho tế bào ung thư đang phân chia nhanh chóng. Các antifolate như methotrexate bắt nguồn từ nghiên cứu nêu trên, tuy nhiên methotrexate quá độc nên không thể sử dụng như một kháng sinh.

Trimethoprim được phát triển vào năm 1969 bởi George Hitchings và Gertrude Elion (hai nhà khoa học chia sẻ giải Nobel 1988 nhờ công trình này và một số đóng góp khác về hóa trị liệu). Trimethoprim ngăn cản sinh tổng hợp tetrahydrofolic acid và đưa đến kìm khuẩn. DHFR của vi khuẩn và người có sự khác nhau tế nhị về cấu trúc nhưng ảnh hưởng lớn đến ái lực gắn kết với trimethoprim. Thực vậy, DHFR của vi khuẩn nhạy cảm đối với sự ức chế bởi trimethoprim ở nồng độ 100.000 lần thấp hơn so với enzyme của người. Sự khác nhau này giải thích độc tính chọn lọc hữu ích của trimethoprim [10].



Hình 5.10.12. Vị trí tác động của trimethoprim

2.4. Ứng dụng trị liệu [1]

Trimethoprim có thể dùng đơn lẻ bằng đường uống để trị nhiễm trùng đường niệu không biến chứng gây bởi vi khuẩn nhạy cảm (*E. coli* mắc phải trong cộng đồng và những trực khuẩn gram âm khác). Tuy vậy trimethoprim được dùng phổ biến nhất ở dạng kết hợp tỉ lệ 1:5 với sulfamethoxazole. Sự kết hợp này không những chỉ đồng vận *in vitro* mà còn ít cảm ứng sự đề kháng của vi khuẩn hơn là dùng đơn lẻ từng thuốc. Sự phối hợp này làm cho những vi khuẩn không bị ức chế hoàn toàn bởi sulfamethoxazole ở bước DHPS sẽ không thể tiếp tục chuỗi phản ứng ở bước tiếp theo của DHFR. Nói cách khác, những tác nhân này chặn 2 bước khác nhau trong cùng một con đường sinh hóa thiết yếu, làm cho vi khuẩn cực kỳ khó sống sót. Xác suất vi khuẩn đột biến thành công để đề kháng cả hai enzyme trong một quá trình điều trị cũng rất thấp. Tuy vậy, nếu vi khuẩn đã đề kháng với 1 trong 2 thuốc lúc khởi đầu điều trị, lợi điểm khi phối hợp thuốc sẽ bị mất.

Sự ghép cặp 2 tác nhân kháng khuẩn này còn được dựa trên những yếu tố dược động học. Để có một kết hợp hữu dụng *in vivo*, 2 tác nhân phải đến nơi có sự nhiễm trùng đúng thời điểm và đúng tỉ lệ. *In vitro*, tỉ lệ tối ưu của 2 tác nhân này là 1:20. Việc dùng đường uống hai tác nhân trimethoprim:sulfamethoxazole tỉ lệ 1:5, tạo ra tỉ lệ 1:20 trong cơ thể một khi đạt tới trạng thái cân bằng. Kết hợp này được sử dụng để trị nhiễm trùng đường niệu, nhiễm trùng đường ruột do *Shigella,* viêm tai giữa, tiêu chảy ở du khách, MRSA mắc phải trong cộng đồng, viêm phổi mạn tính bộc phát cấp tính và viêm phổi do suy giảm miễn dịch (nấm *Pneumocystis jiroveci* là một mầm bệnh cơ hội đối với người suy giảm miễn dịch).

Tác dụng phụ thông thường nhất của phối hợp trimethoprim - sulfamethoxazole là mẩn ngứa, buồn nôn và nôn. Chứng loạn thể tạng máu ít phổ biến, cũng như viêm đại tràng màng giả.

Câu hỏi tự lượng giá

1. Giải thích liên quan đến cấu trúc vì sao trong tiêu chuẩn kiểm nghiệm của các sulfamide kháng khuẩn, luôn có thử nghiệm "Màu sắc của dung dịch chế phẩm"?
2. Nêu điểm khác biệt về cấu trúc giữa sulfamide kháng khuẩn với sulfamide lợi tiểu, cũng như với sulfamide hạ đường huyết. Từ đó xác định điểm cấu trúc quan trọng liên quan đến tác dụng của mỗi nhóm sulfamide?

Danh mục từ viết tắt

DHFR: dihydrofolate reductase

DHFS: dihydrofolate synthase

DHPS: dihydropteroate synthase

PABA: *para*-aminobenzoic acid

Tài liệu tham khảo

1. Lemke TL, Williams DA, Roche VF, Zito SW. Foye's Principles of Medicinal Chemistry. Seventh edition. Lippincott Williams & Wilkins, 2013, chapter 33.
2. Beale JH, Blook JM, Wilson and Gisvold'sTextbook of organic medicinal and pharmaceutical chemistry. Twelfth edition. Lippincott Williams & Wilkins, 2011, chapter 6.
3. Roth HJ, Eger K, Troschütz R. Pharmaceutical chemistry - Volume 2. Drug analysis. Ellis Horwood. 1991. 148-150; 191-194.

4. Yun MK, Wu Y, Li Z, Zhao Y, Waddell MB, Ferreira AM, Lee RE, Bashford D, White SW. Catalysis and sulfa drug resistance in dihydropteroate synthase. Science. 2012 Mar 2; 335(6072):1110-1114.

5. MacDougall C. Sulfonamides, Trimethoprim-Sulfamethoxazole, Quinolones, and Agents for Urinary Tract Infections. In: Brunton LL, Hilal-Dandan R, Knollmann BC, editors. Goodman&Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. 13th ed. United States: McGraw-Hill Education; 2018. pp.1012-1013.

6. André Bryskier. Antibiotiques, agents antibactériens et antifongiques. Ellipses. 1999; pp.86-88.

7. García-Galán J, Díaz-Cruz MS, Barceló D. Identification and determination of metabolites and degradation products of sulfonamide antibiotics.TrAC Trend Anal Chem. 2008 Dec; 27(11):1008-1022.

8. MacDougall C. Sulfonamides, Trimethoprim-Sulfamethoxazole, Quinolones, and Agents for Urinary Tract Infections. In: Brunton LL, Hilal-Dandan R, Knollmann BC, editors. Goodman&Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. 13th ed. United States: McGraw-Hill Education; 2018. pp.1012-1013.

9. Fox CL Jr, Modak SM. Mechanism of silver sulfadiazine action on burn wound infections. Antimicrob Agents Chemother. 1974 Jun; 5(6):582-588.

10. Matthews DA, Bolin JT, Burridge JM, Filman DJ, Volz KW, Kraut J. Dihydrofolate reductase. The stereochemistry of inhibitor selectivity. J Biol Chem. 1985 Jan 10; 260(1):392-399.

5.11. NHÓM QUINOLONE

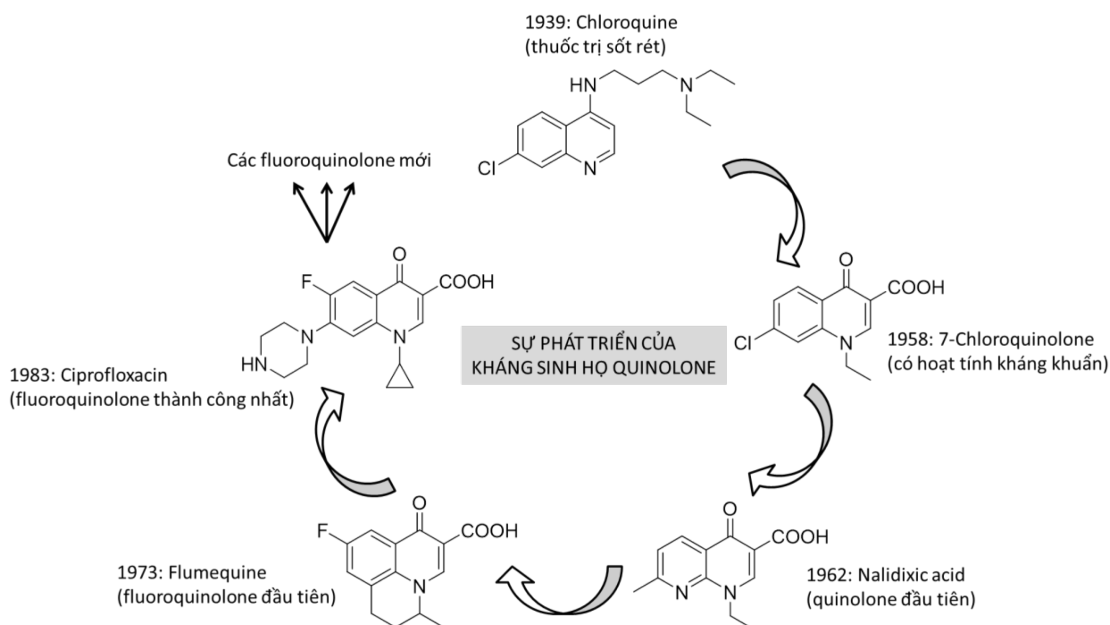
Các hoạt chất được đề cập

Nalidixic acid	Ofloxacin	Gemifloxacin
Cinoxacin	Ciprofloxacin	Trovafloxacin
Norfloxacin	Levofloxacin	Moxifloxacin
Lomefloxacin	Sparfloxacin	Finafloxacin
Enoxacin	Gatifloxacin	Delafloxacin

1. GIỚI THIỆU

Quinolone là nhóm kháng sinh có nguồn gốc tổng hợp toàn phần, được phát hiện vào những năm 1960 nhờ khám phá 7-chloroquinolone (một sản phẩm phụ trong quá trình tổng hợp chloroquine) có tác dụng kháng khuẩn. Hai hãng dược phẩm có công khám phá ra họ kháng sinh này là Sterling Drugs (nay là một phần của Sanofi) và Imperial Chemical Industries (nay là một phần của AstraZeneca) [1]. Chất khởi nguồn 7-chloroquinolone không hữu dụng trong lâm sàng do tỉ lệ thuốc gắn kết với protein cao (khoảng 90%) và thời gian bán hủy ngắn (khoảng 90 phút), do vậy được tối ưu hóa thành nalidixic acid vào năm 1962. Nalidixic acid được sử dụng rộng rãi trong hơn 30 năm để điều trị nhiễm trùng đường niệu do vi khuẩn gram âm, chủ yếu do *Escherichia coli* gây ra. Việc tối ưu hóa này đánh dấu sự khởi đầu của những nỗ lực tổng hợp hóa học để tìm hiểu mối quan hệ cấu trúc - tác động của các quinolone nhằm tìm ra những quinolone có hoạt tính sinh học và dược động học được cải thiện cũng như độc tính và tương tác thuốc giảm đi. Bước ngoặt quan trọng trong việc thay đổi cấu trúc là đưa thêm vào khung căn bản của kháng sinh nhóm quinolone một nguyên tử F ở vị trí 6, tạo ra nhóm fluoroquinolone (FQ) mà chất đầu tiên là flumequine.

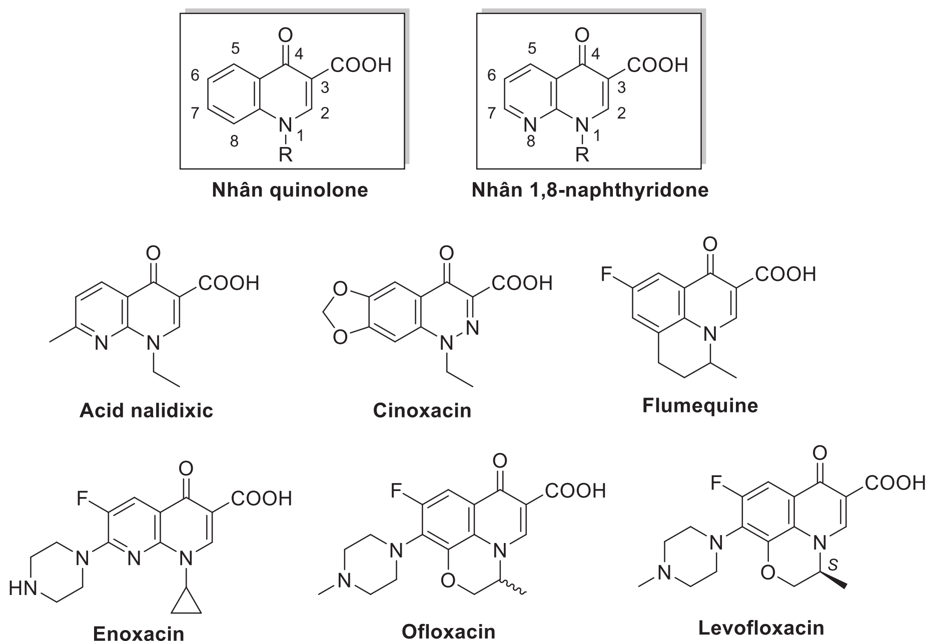
Với nỗ lực cải thiện xa hơn phổ hoạt tính chống lại các loài vi khuẩn gram dương, một số thay đổi đã được thực hiện trên các vị trí 1,5,7,8. Các FQ mới hơn được phát hiện có thời gian bán thải dài hơn, sinh khả dụng qua đường uống cao, hiệu lực cao, thâm nhập vào mô rộng và tỷ lệ kháng thuốc thấp hơn so với các FQ trước đó. Là một nhóm thuốc tổng hợp hoàn toàn, sự phát triển của FQ diễn ra từ từ và có hệ thống. Mỗi thế hệ dường như truyền đạt những hiệu lực mới theo xu hướng có được hiệu quả cao đối với vi khuẩn gram dương bên cạnh hiệu lực hiện đã được tối ưu hóa chống lại vi khuẩn gram âm. Đáng chú ý, các FQ mới hơn cũng thể hiện hoạt tính chống lại vi khuẩn kỵ khí.

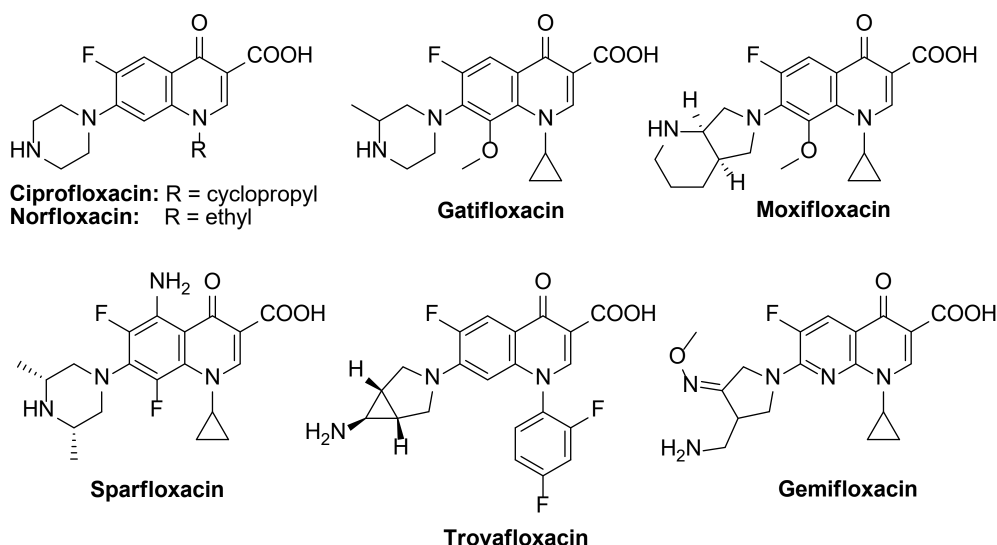


Hình 5.11.1. Quá trình phát triển của kháng sinh họ quinolone [1]

2. CẤU TRÚC VÀ TÍNH CHẤT LÝ HÓA

Cấu trúc tổng quát của các kháng sinh họ quinolone bao gồm vòng "3-carboxypyrid-4-one thế alkyl ở vị trí 1" gắn với một vòng thơm khác như benzene (tạo thành nhân quinolone), hoặc pyridine (tạo thành nhân 1,8-naphthyridone); các nhân thơm hay dị vòng thơm này mang những nhóm thế khác.





Hình 5.11.2. Cấu trúc của một số quinolone kháng khuẩn

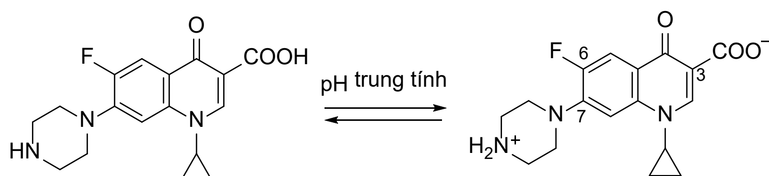
- *Đặc điểm phân ly của quinolone:*

+ Quinolone thế hệ thứ nhất như nalidixic acid, cinoxacin, chứa duy nhất 1 nhóm 3-carboxylic acid có thể ion hóa. Giá trị pK_a đối với nhóm 3-COOH ở nalidixic acid và những quinolone kháng khuẩn khác nằm trong khoảng 5.6-6.4. Các giá trị pK_a này tương đối cao (so với pK_a 4.2 của benzoic acid), được giải thích do tác động làm yếu tính acid của liên kết hydro nội phân tử giữa nhóm 3-COOH và nhóm 4-carbonyl kế cận [2].

+ Trong khi đó, đa số FQ có 2 chức có thể ion hóa đó là nhóm 3-COOH và một nhóm có thể được proton hóa ở vị trí 7, ví dụ như dị vòng 7-piperazinyl. Giá trị pK_{a1} tương ứng với nhóm carboxylic là 6.0±0.3, độc lập với nhóm thế ở vị trí 7. Giá trị pK_{a2} của chức base ở vị trí 7 khoảng 8.8 và phụ thuộc vào bản chất hóa học của nhóm thế. Do vậy các FQ vừa tan được trong kiềm, vừa tan được trong acid [2].

Tại pH trung tính (pH sinh lý), do sự phân ly đáng kể của nhóm 3-carboxylic acid và nhóm mang tính base ở vị trí 7 nên 90% FQ ở dạng ion lưỡng tính (zwitterion) (Hình 5.11.3), ít thuận lợi cho việc thấm qua màng tế bào vi khuẩn.

Các FQ có vòng piperazinyl ở vị trí 7 kém hoạt tính ở môi trường acid hơn là ở môi trường kiềm. Ngược lại những FQ không có nhóm thế thơm ở vị trí 7 thì hoạt tính hơn trong môi trường acid.



Hình 5.11.3. Dạng zwitterion của FQ ở pH trung tính

Xu hướng đối với vài FQ (ví dụ: norfloxacin, ciprofloxacin) ở liều cao gây ứ tinh thể niệu quản trong nước tiểu kiềm, một phần do sự chiếm ưu thế của dạng zwitterion tương đối ít tan.

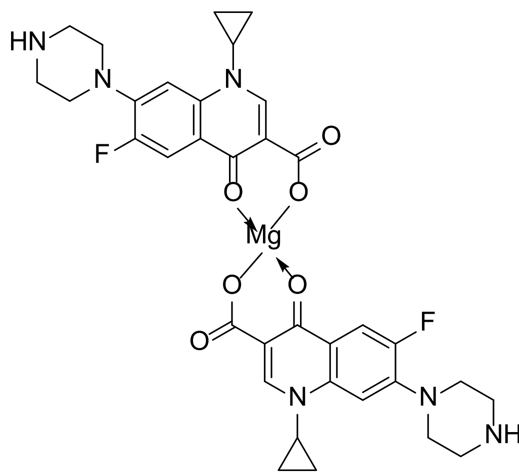
- *Độ tan trong nước:* pH ảnh hưởng đến tính tan trong nước của các hợp chất nhóm FQ. Ví dụ độ tan trong nước của ofloxacin là 60 mg/mL ở pH từ 2-5, giảm xuống 4 mg/mL ở pH = 7 (gần điểm đẳng điện pI) và tăng đến 303 mg/mL ở pH = 9.8 (USP 15).

Dạng muối dễ tan trong nước hơn, các quinolone thường được sử dụng dưới dạng muối hydrochloride.

- *Khả năng tạo phức chelate:*

Quinolone có thể tạo chelate 1:1, 2:1 hay 3:1 với những ion kim loại như Ca^{2+}, Mg^{2+}, Zn^{2+}, Fe^{2+}, Fe^{3+} và Bi^{3+}. Sự chelate hóa xảy ra giữa ion kim loại với các nhóm 3-carboxylate và 4-carbonyl (Hình 5.11.4). Vì những phức này không tan trong nước, việc dùng đồng thời quinolone với thực phẩm/thuốc chứa ion kim loại có thể làm giảm đáng kể sinh khả dụng đường uống của quinolone. Do vậy, thực phẩm/thuốc chứa ion kim loại đa hóa trị nên được dùng 4 giờ trước hoặc 2 giờ sau khi dùng quinolone [2].

Sự hiện diện ion hóa trị 2 trong nước tiểu (ví dụ Mg^{2+}) có lẽ góp phần làm cho độ tan của một vài FQ tương đối thấp hơn trong nước tiểu so với trong huyết tương.



Hình 5.11.4. Sự tạo phức chelate 2:1 không tan giữa ciprofloxacin và Mg^{2+}

- Các FQ phát huỳnh quang trong dung dịch H_2SO_4 0.5 N.

3. KIỂM NGHIỆM

- *Định tính:* Phổ IR so với phổ chuẩn đối chiếu.

- *Kiểm tinh khiết:*

+ Năng suất quay cực (trường hợp trong cấu trúc có carbon bất đối).

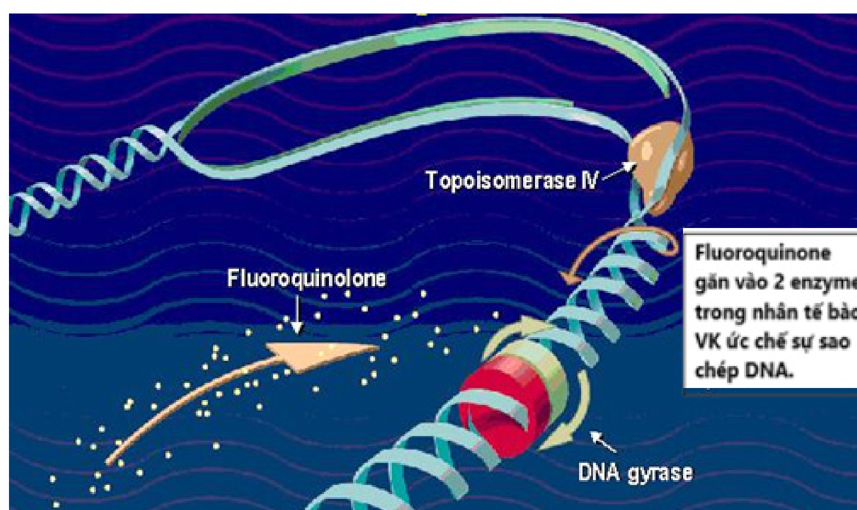
+ Độ hấp thu UV.

+ Tạp liên quan (nguyên liệu, sản phẩm trung gian, sản phẩm phụ trong quá trình tổng hợp các quinolone) được kiểm bằng sắc ký lớp mỏng, sắc ký lỏng.

- *Định lượng:* Phương pháp chuẩn độ môi trường khan với dung dịch chuẩn độ là acid $HClO_4$.

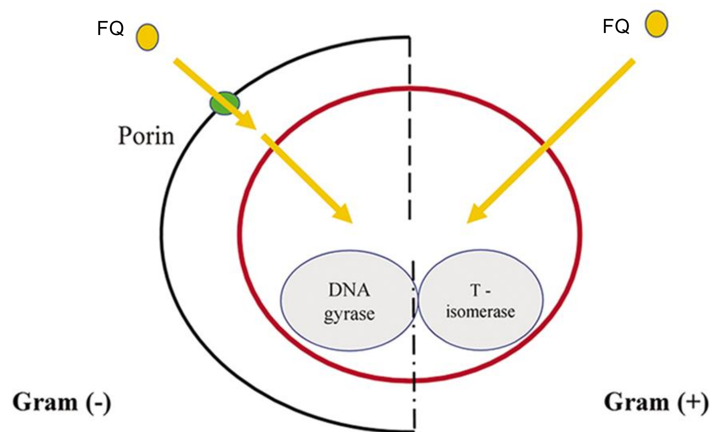
4. CƠ CHẾ TÁC DỤNG

- **DNA gyrase** và **topoisomerase IV** làm thay đổi cấu dạng của DNA (cần thiết cho quá trình sao chép) bằng cách cắt tạm thời chuỗi kép của DNA. Theo cách này DNA gyrase thay đổi mức độ xoắn của DNA, trong khi DNA topoisomerase IV cởi dây (untie) những phân tử DNA con được tạo ra qua quá trình sao chép.



Hình 5.11.5. Sơ đồ mô tả cơ chế tác dụng của FQ *(The WritePass Journal)*

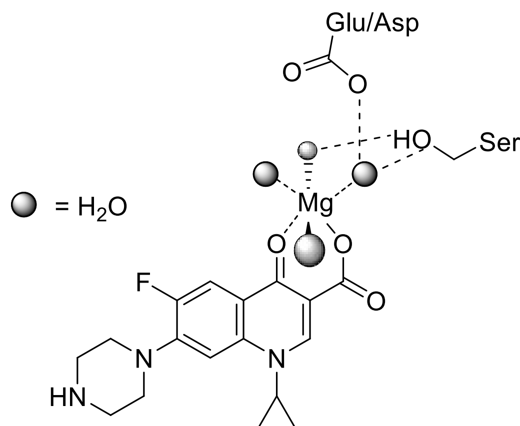
- Quinolone diệt khuẩn rộng và nhanh là do ức chế DNA gyrase và topoisomerase IV, làm ngừng quá trình sao chép DNA và dẫn đến sự chết của tế bào vi khuẩn. Các quinolone khác nhau ức chế enzyme ở những mức độ khác nhau. Topoisomerase IV dường như quan trọng với vi khuẩn gram dương, trong khi DNA-gyrase thì quan trọng đối với một số vi khuẩn gram âm.



Hình 5.11.6. Ái lực của FQ khác nhau trên enzyme đích ở vi khuẩn gram âm và gram dương [3]

- Quinolone gắn với phức hợp enzyme-DNA ngay tại vị trí DNA bị cắt và ngăn quá trình nối lại chuỗi DNA. Cụ thể hơn, quinolone cùng với 4 phân tử H_2O tham gia tạo phức với ion Mg^{2+}. Phức hợp này có thể tương tác với gyrase/topoisomerase IV qua liên kết hydro với 2 trong số 4 phân tử H_2O (Hình 5.11.7).

- Ở người, phân tử DNA được định hướng với topoisomerase II, một enzyme tương đồng, enzyme này không có cấu trúc có khả năng tạo cầu nối H_2O - Mg^{2+} với quinolone, vì vậy quinolone không giết tế bào ký chủ [4].



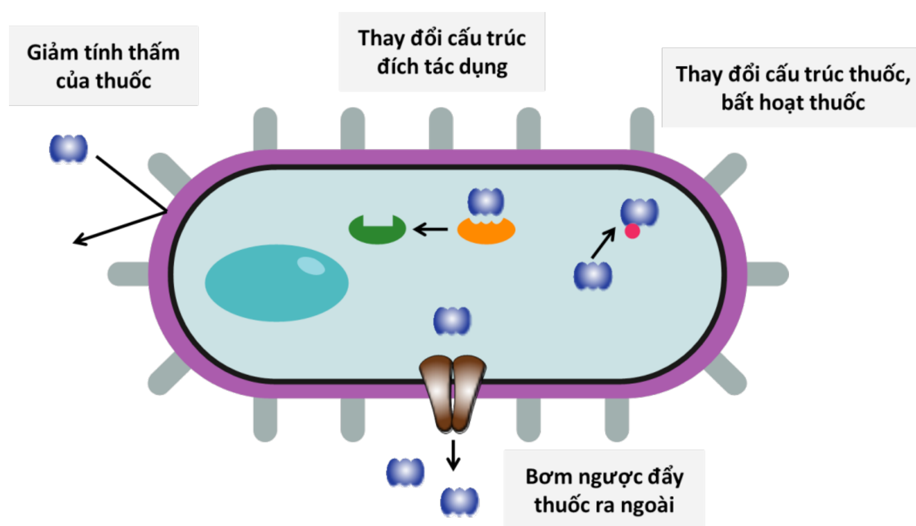
Hình 5.11.7. Cơ chế gắn kết giữa quinolone và enzyme thông qua cầu nối H_2O - Mg^{2+}

5. SỰ ĐỀ KHÁNG

- Sự đề kháng quinolone là do sự đột biến ngẫu nhiên trong gen mã hóa DNA gyrase và topoisomerase IV, hai protein đích của quinolone. 90% các đột biến được phát hiện ở các mẫu vi khuẩn là ở serine - amino acid tạo cầu nối H_2O - Mg^{2+}. Đột biến một gen có thể dẫn đến sự đề kháng mức độ thấp, trong khi đột biến ở cả 2 gen dẫn đến sự đề kháng mức độ cao. Cơ chế đề kháng này tạo sự đề kháng chéo trong các kháng sinh quinolone (vì đều làm mất khả năng tạo cầu nối H_2O-Mg^{2+}) [4].

- Vi khuẩn có thể đề kháng với quinolone bằng cách sản xuất acetyltransferase, enzyme này acetyl hóa nitrogen bậc 2 của vòng piperazine gắn trên C7 (norfloxacin và ciprofloxacin), làm giảm hoạt tính của thuốc [4].

- Ngoài ra còn có sự đề kháng do gia tăng bơm kháng thuốc, hay giảm tính thấm màng ngoài ảnh hưởng đến việc đi vào của thuốc. Cơ chế này được cho là phổ biến ở vi khuẩn gram âm với một thành tế bào phức tạp hơn vi khuẩn gram dương.

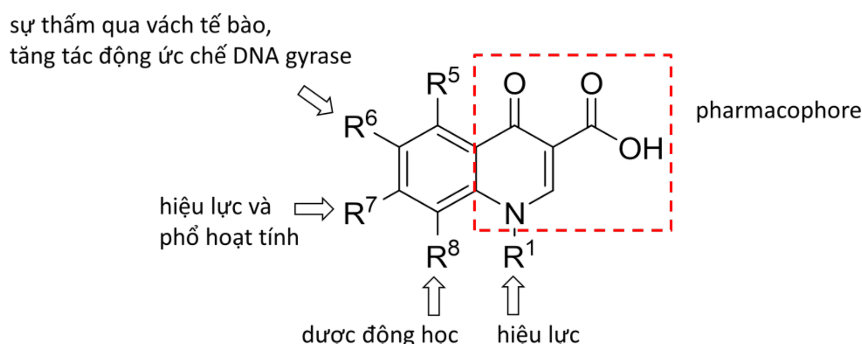


Hình 5.11.8. Sự đề kháng của vi khuẩn đối với FQ

6. QUAN HỆ CẤU TRÚC - TÁC DỤNG

Đặc điểm cấu trúc của quinolone ảnh hưởng mạnh đến dược động học và khả năng kháng khuẩn của nhóm thuốc này. Pharmacophore chính cần cho hoạt tính là nhân 3-carboxypyrid-4-one.

- Nhóm chức 3-carboxylic acid và 4-carbonyl liên quan đến sự gắn kết với hệ DNA/DNA-gyrase. Sự khử liên kết 2-3 hay nhóm 4-keto làm bất hoạt phân tử, và sự thế tại C2 can thiệp vào sự tạo phức enzyme - chất nền.



Hình 5.11.9. Những nét chính trong quan hệ cấu trúc - hoạt tính của các quinolone [5,6]

- Sự thế của 1 nguyên tử F tại C6 cải thiện lớn hoạt tính kháng khuẩn do gia tăng tính thân lipid của phân tử, điều này giúp cải thiện sự thấm qua vách tế bào vi khuẩn. Ngoài ra F tại C6 còn làm gia tăng tác động ức chế DNA-gyrase.

- Việc đưa vào vòng thứ 3 vào trong nhân quinolone cho ra đời ofloxacin. Ngoài ra ofloxacin có một carbon bất đối ở vị trí 3'. Đồng phân *S*(-)-levofloxacin có hoạt tính mạnh hơn gấp 2 lần ofloxacin và gấp 8-128 lần đồng phân *R*(+) do gia tăng ái lực với DNA-gyrase.

- Nhóm thế dị vòng tại C7 cải thiện phổ hoạt tính. Nhóm piperazinyl (ciprofloxacin) làm tăng hoạt tính trên vi khuẩn gram âm, trong khi nhóm pyrrolidinyl (moxifloxacin) cải thiện hoạt tính kháng khuẩn trên vi khuẩn gram dương [7]. Không may nhóm piperazinyl tại C7 cũng gia tăng sự gắn với các thụ thể GABA của hệ thần kinh trung ương (CNS), điều này giải thích tác dụng phụ trên CNS. Nhóm thế alkyl trên piperazine (lomefloxacin và ofloxacin) được cho là giảm sự gắn với GABA, cũng như khi thêm vào những nhóm cồng kềnh tại N1 [6].

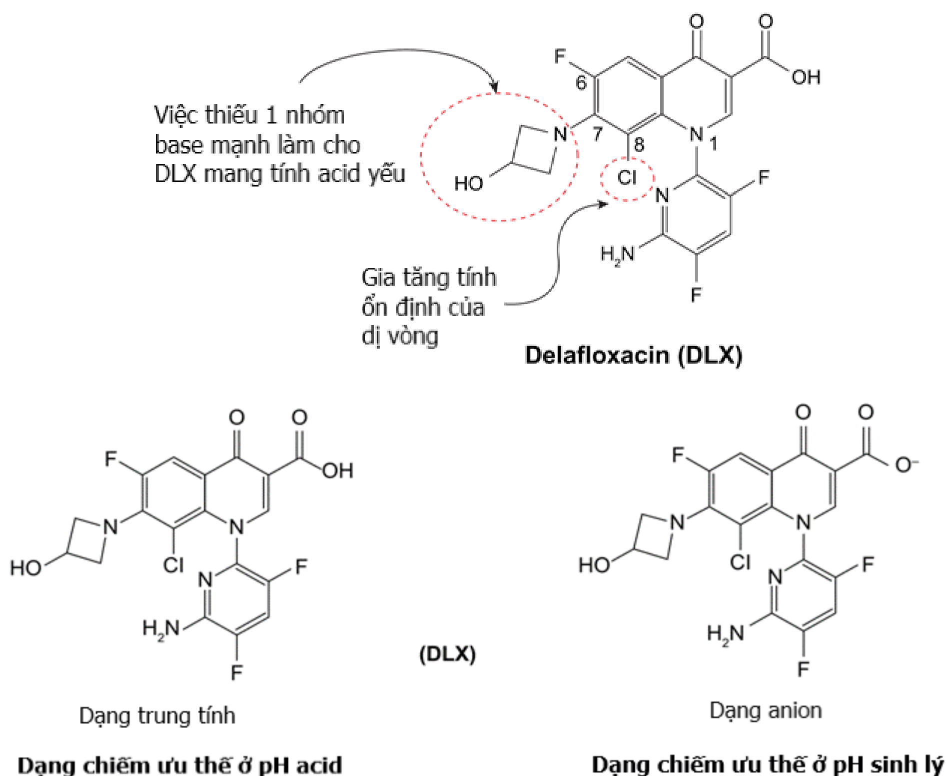
- Nhóm cyclopropyl tại N1 dường như làm mở rộng hoạt tính của quinolone bao gồm hoạt tính trên những vi khuẩn không điển hình như *Mycoplasma, Chlamydia* và những loài *Legionella* [6]. Nhân thơm gắn vào N1 làm gia tăng bề mặt phân tử so với các quinolone khác, điều này dường như cũng góp phần làm gia tăng hoạt tính kháng khuẩn (trường hợp delafloxacin) [8].

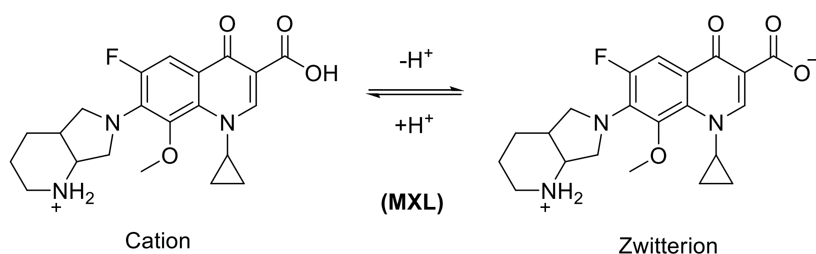
- Gắn nhóm $-NH_2$ trên C5 làm tăng hoạt tính trên vi khuẩn gram dương (sparfloxacin) [9].

- Một nhóm thế F tại C8 tác động như 1 nhóm hút electron, làm giảm tính phản ứng của dị vòng và ổn định phân tử. F tại C8 cải thiện xa hơn sự hấp thu của thuốc và $T_{1/2}$ nhưng cũng có thể gia tăng sự nhạy cảm với ánh sáng cảm ứng bởi thuốc [6]. Nhiều quinolone tạo ra sự nhạy cảm với ánh sáng từ nhẹ đến trầm trọng. Một halogen ở C8 dường như tạo ra nguy cơ cao nhất về sự nhạy cảm với ánh sáng thông qua sự cảm ứng gốc tự do và "oxygen singlet".

- Một nhóm thế tại C7 mang tính base yếu (hoặc không có tính base) làm cho FQ tác dụng tốt hơn trong môi trường acid. Ví dụ như delafloxacin (DLX) với nhóm thế tại C7 là 3-hydroxy-1-azetidinyl, tính base giảm hẳn, FQ này mất khả năng hoạt động như zwitterion và thể hiện tính acid yếu. pKa (5.4) của DLX thấp hơn những quinolone khác. Kết quả là, ở những khu vực có môi trường acid (pH = 5-5.5) như bên trong thể thực bào sinh tan (phagolysosome) hay nơi bị viêm, DLX được tìm thấy chủ yếu ở dạng trung tính hoặc ion, điều này làm thuận lợi cho sự xuyên màng đi vào bên trong tế bào vi khuẩn thông qua gradient. Khi đã vào bên trong tế bào vi khuẩn, ở đó pH trung tính, DLX bị mất proton trở thành dạng ion hóa được giữ lại trong vi khuẩn. Những FQ khác như moxifloxacin (MXL) hiện diện trong môi trường acid ở dạng zwitterion, dạng trung tính ít hơn DLX, đưa đến sự qua màng tế bào vi khuẩn thấp hơn (Hình 5.11.10). MIC của DLX có thể được giảm 2-32 lần trong môi trường acid so với các quinolone khác, điều này biện minh cho sự hữu ích *in vivo* của DLX trong những nhiễm trùng định vị ở môi trường acid như áp xe và mưng mủ hay những khu vực trong cơ thể có tính acid như nước tiểu, âm đạo và dạ dày [8,10,11].

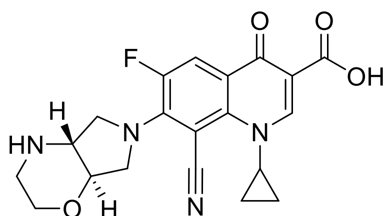
Nói chung, nhóm thế ở C7, và ở một mức độ ít hơn nhóm thế C8 xác định cường độ và mục tiêu tác động ưu tiên của FQ, có nghĩa là ái lực nhiều hơn hay ít hơn đối với topoisomerase IV hay gyrase. DLX thể hiện ái lực tương đương đối với cả 2 mục tiêu, điều này giải thích tính ổn định lớn hơn nhờ những thay đổi cấu trúc như đã đề cập [8].





Hình 5.11.10. Dạng chiếm ưu thế của DLX ở pH acid và trung tính.
Dạng cation và zwitterion của MXL [8]

Với nhóm thế 8-cyano và 7-pyrrolo-oxazinyl, finafloxacin có cấu trúc zwitterion với điểm đẳng điện pI = 6.7; pKa_1 = 5.6 (chức carboxylate) và pKa_2 = 7.8 (nitrogen tại nhóm thế C7), tương phản với ciprofloxacin với pI = 7.4; pKa_1 và pKa_2 là 6.1 và 8.7. Finafloxacin gia tăng hoạt tính kháng khuẩn trong điều kiện acid và có lợi ở những vị trí nhiễm trùng đặc hiệu như da, mô mềm, âm đạo, đường niệu và điều trị nhiễm trùng *Helicobacter pylori*. Hoạt tính diệt khuẩn tối đa được quan sát tại pH 5-6. Tuy vậy, tại pH trung tính hoạt tính kháng khuẩn tương tự các FQ khác [12].



Hình 5.11.11. Finafloxacin

7. ỨNG DỤNG TRỊ LIỆU

Nói chung, FQ hấp thu tốt qua đường uống (khi không có mặt chất tạo phức chelate) và có thể tích phân bố cao do khả năng gắn kết protein thấp, tính tan và đặc điểm ion hóa của chúng.

Bảng 5.11.1. Đặc điểm dược động học của một số kháng sinh họ quinolone [6]

Thuốc	Sinh khả dụng đường uống (%)	Gắn kết với protein (%)	$T_{1/2}$ (giờ)
Ciprofloxacin	70	30	3-5
Enoxacin	90	40	3-6
Gatifloxacin	96	20	8
Gemifloxacin	71	60-70	8
Levofloxacin	99	31	6,9
Moxifloxacin	86	47	12.1
Norfloxacin	30-40	10-15	3-4
Ofloxacin	98	32	9

- *Quinolone thế hệ thứ 1:* Nalidixic acid, cinoxacin (ngưng sử dụng), nồng độ trong mô và huyết thanh thấp. Không dùng được trong trường hợp nhiễm trùng hệ thống; được dùng hạn chế trong nhiễm trùng tiểu không biến chứng. Không hoạt tính trên *Pseudomonas aeruginosa,* vi khuẩn gram dương và vi khuẩn yếm khí.

- *Quinolone thế hệ 2:* Norfloxacin, lomefloxacin (ngưng sử dụng), enoxacin, ofloxacin và ciprofloxacin. Nồng độ thuốc trong mô và huyết thanh đủ để dùng cho nhiễm trùng hệ thống. Hoạt tính trên vi khuẩn gram âm bao gồm *P. aeruginosae;* hoạt tính yếu trên *Streptococcus pneumoniae;* không có hoạt tính trên vi khuẩn yếm khí.

+ Norfloxacin dùng chủ yếu cho nhiễm trùng đường tiểu *(Enterobacter* sp, *Enterococcus* sp, *P. aeruginosa).*

+ Ciprofloxacin được dùng trong viêm tuyến tiền liệt, nhiễm trùng hệ đường niệu trên, nhiễm trùng xương, nhiễm trùng máu, viêm màng trong tim do staphylococi, *Pseudomonas*, viêm não, những bệnh lây qua đường sinh dục (bệnh lậu và Chlamydia), nhiễm trùng tai mạn tính, viêm khớp có mủ.

- *Quinolone thế hệ 3:* Levofloxacin, sparfloxacin (ngưng sử dụng), gatifloxacin (ngưng sử dụng), và gemifloxacin. Liều 1 lần/ngày. Hoạt tính trên *S. pneumoniae* và vi khuẩn không điển hình. Hoạt tính yếu trên *P. aeruginosa.*

+ Được dùng để điều trị những nhiễm trùng do *Legionaella sp*, *Chlamydia sp* và *Mycoplasma sp*, cũng như *S. pneumoniae*. Những tác nhân được dùng trong những trường hợp cấp tính của viêm cuống phổi mãn tính và bệnh phổi mắc phải trong cộng đồng.

+ Gemifloxacin: hiệu quả trong nhiễm trùng *S. pneumoniae* đa đề kháng.

+ Ngoài ra quinolone thế hệ 3 còn được chỉ định trong những nhiễm trùng da và viêm xoang cấp gây bởi *S. pneumoniae, H. influenzae* và *Moraxella catarrhalis*.

- *Quinolone thế hệ 4:* Hoạt tính trên vi khuẩn gram âm và gram dương hiếu khí và kỵ khí.

+ Trovafloxacin (ngưng sử dụng) và moxifloxacin có phổ hoạt tính bao gồm cả vi khuẩn kỵ khí như *Bacteroides fragilis*.

+ Finafloxacin và delafloxacin hoạt tính tốt trên *P. aeruginosa* và *Staphylococcus aureus*. Delafloxacin cũng hiệu quả trên MRSA.

Fluoroquinolone còn nằm trong nhóm thuốc kháng lao hàng thứ hai.

8. TÁC DỤNG PHỤ

So với betalactam và macrolide, quinolone có nhiều tác dụng phụ hơn:

- Tác dụng phụ gây co giật, đặc biệt động kinh, thường đi kèm với quinolone thế hệ 1.

- Trên thần kinh trung ương: gây ảo giác, mất ngủ, và rối loạn thị lực.

- Tiêu chảy, nôn mửa, đau bụng và chán ăn (phổ biến nhất với trovafloxacin).

- Làm mòn những khớp chịu sức nặng. Không nên dùng cho trẻ dưới 18 tuổi. Ciprofloxacin là quinolone được dùng cho trẻ em khi hết sức cần thiết.

- Tiềm năng gây tổn thương 3 tháng đầu thai kỳ do nhiễm toan chuyển hóa trầm trọng và thiếu máu huyết giải.

- Đứt gân và viêm gân là tác dụng phụ hiếm gặp nhưng đặc trưng cho nhóm quinolone, trong đó, gân gót (gân Achilles) bị tác động nhiều nhất.

Câu hỏi tự lượng giá

1. Tính phát quang của các FQ gợi nhớ đến đặc điểm cấu trúc nào của họ kháng sinh này?
2. Biết rằng pK_{a1} của levofloxacin là 5.4. Giải thích sinh khả dụng đường uống tuyệt hảo (99%) liên quan đến đặc điểm ion hóa của FQ này?

Danh mục từ viết tắt

CNS: central nervous system (hệ thần kinh trung ương)

DLX: delafloxacin

FQ: fluoroquinolone

MRSA: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

MXL: moxifloxacin

Tài liệu tham khảo

1. Idowu T, Schweizer F. Ubiquitous Nature of Fluoroquinolones: The Oscillation between Antibacterial and Anticancer Activities. Antibiotics (Basel). 2017 Nov 7; 6(4):26.
2. Beale JM. Antibacterial Antibiotics, In: Beale JH, Blook JM, editors. Wilson and Griswold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry. 12th ed. United States. Lippincott Williams & Wilkins, 2011. pp.206-213.
3. Brar RK, Jyoti U, Patil RK, Patil HC. Fluoroquinolone antibiotics: An overview. Adesh University Journal of Medical Sciences & Research. 2020 Jan-Jun; 2(1):26-30.
4. Aldred KJ, Kerns RJ, Osheroff N. Mechanism of quinolone action and resistance. Biochemistry. 2014 Mar 18; 53(10):1565-1574.

5. Suaifan GARY S, Mohammed AAM. Fluoroquinolones structural and medicinal developments (2013-2018): Where are we now? Bioorg Med Chem. 2019 Jul 15; 27(14):3005-3060.

6. Gentry EJ. Antibiotics and Antimicrobial Agents. In: Lemke TL, Williams DA, Roche VF, Zito SW, editors. Foye's Principles of Medicinal Chemistry. 7th ed. United States: Lippincott Williams & Wilkins; 2013. pp.1083-1086.

7. Andersson MI, MacGowan AP. Development of the quinolones. J Antimicrob Chemother. 2003 May; 51 Suppl 1:1-11.

8. Candel FJ, Peñuelas M. Delafloxacin: design, development and potential place in therapy. Drug Des Devel Ther. 2017 Mar 20; 11:881-891.

9. Sharma PC, Jain A, Jain S. Fluoroquinolone antibacterials: a review on chemistry, microbiology and therapeutic prospects. Acta Pol Pharm. 2009 Nov-Dec; 66(6):587-604.

10. Mogle BT, Steele JM, Thomas SJ, Bohan KH, Kufel WD. Clinical review of delafloxacin: a novel anionic fluoroquinolone. J Antimicrob Chemother. 2018 Jun 1; 73(6):1439-1451.

11. Lemaire S, Tulkens PM, Van Bambeke F. Contrasting effects of acidic pH on the extracellular and intracellular activities of the anti-gram-positive fluoroquinolones moxifloxacin and delafloxacin against *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. 2011 Feb; 55(2):649-658.

12. Kocsis B, Domokos J, Szabo D. Chemical structure and pharmacokinetics of novel quinolone agents represented by avarofloxacin, delafloxacin, finafloxacin, zabofloxacin and nemonoxacin. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2016 May 23; 15(1):34.

5.12. NHÓM OXAZOLIDINONE

Các hoạt chất được đề cập

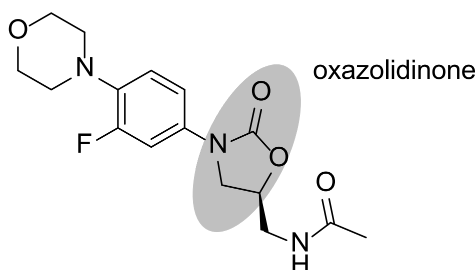
Linezolid

Tedizolid

1. GIỚI THIỆU

Trong thập niên 80 của thế kỷ XX, thời kỳ hoàng kim của nghiên cứu tìm ra kháng sinh mới đã qua. Các nhà khoa học và công ty dược tập trung vào việc thay đổi cấu trúc các nhóm kháng sinh sẵn có để cải thiện hoạt tính, phổ kháng khuẩn và chống lại sự đề kháng kháng sinh ngày một gia tăng. Các chủng vi khuẩn kháng thuốc đáng chú ý nhất là *Staphylococcus aureus* kháng methicillin (MRSA), *Staphylococcus epidermidis, Streptococcus pneumoniae, Enterococcus faecium* và *Enterococcus faecalis*. Vì vậy, việc tìm ra kháng sinh có cấu trúc mới và cơ chế tác dụng mới là cấp thiết để ngăn sự đề kháng chéo với các thuốc kháng sinh đang lưu hành.

Linezolid là kháng sinh đầu tiên nhóm oxazolidinone được FDA cấp phép lưu hành năm 2000. Linezolid là kháng sinh tổng hợp, có cấu trúc hoàn toàn mới so với các kháng sinh khác. Ban đầu, một số hợp chất có cấu trúc oxazolidinone có tính kháng khuẩn yếu được nghiên cứu bởi công ty E.I. du Pont de Nemours (hiện nay là công ty DuPont). Các nhà nghiên cứu của công ty dược Pharmacia (hiện nay thuộc về hãng Pfizer) tiếp tục thực hiện tối ưu hóa cấu trúc và thử nghiệm lâm sàng các dẫn xuất oxazolidinone để cho ra đời linezolid (Hình 5.12.1) [1].

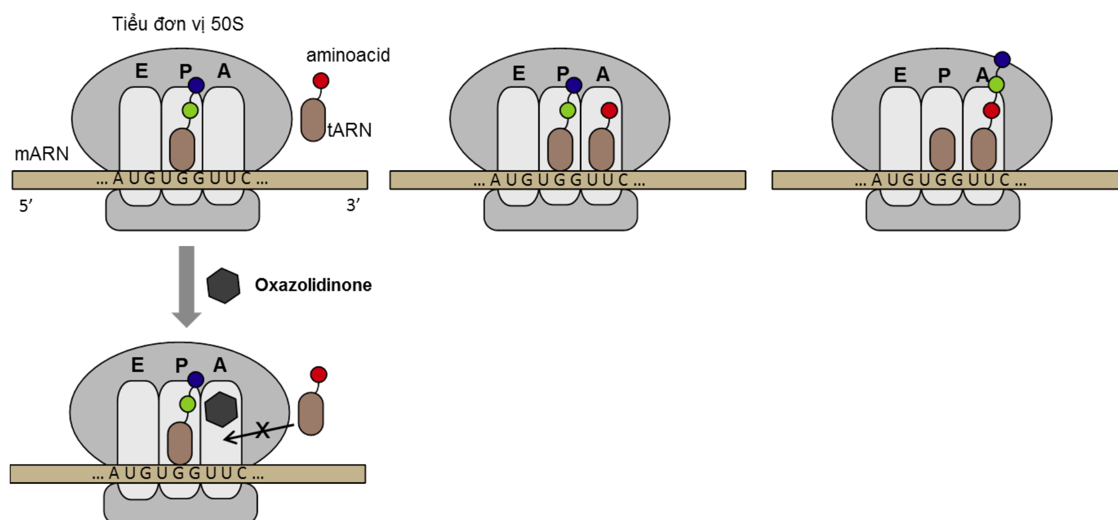


Hình 5.12.1. Linezolid

Năm 2014, FDA cấp phép lưu hành thuốc thứ hai trong nhóm: tedizolid phosphate. Hiện nay, hàng loạt các dẫn xuất oxazolidinone đang được nghiên cứu và thử nghiệm lâm sàng (sutezolid, contezolid, radezolid).

2. CƠ CHẾ KHÁNG KHUẨN

Kháng sinh nhóm oxazolidinone có đích tác dụng là tiểu đơn vị ribosome 50S (r50S) của vi khuẩn, gây ức chế quá trình tổng hợp protein. Trong giai đoạn kéo dài chuỗi của quá trình tổng hợp protein, aminoacyl-tRNA gắn vào vị trí A của r50S và liên kết peptide được tạo thành giữa hai aminoacyl-tRNA ở vị trí A và P. Các oxazolidinone gắn ở vị trí A gần với trung tâm xúc tác (peptidyl transferase center) nên cạnh tranh với aminoacyl-tRNA gắn vào vị trí A.



Hình 5.12.2. Cơ chế tác dụng của các oxazolidinone trên quá trình dịch mã tại ribosome của vi khuẩn

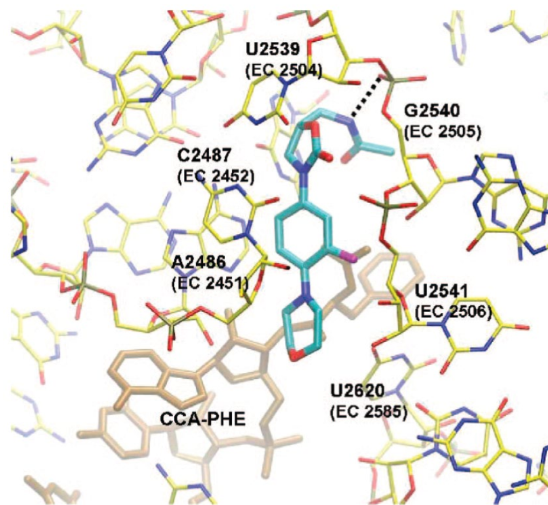
Một số kháng sinh khác cũng có cơ chế và vị trí gắn trên r50S tương tự như oxazolidinone, đó là chloramphenicol, clindamycin, tiamulin và streptogramin A. Vì vậy, các kháng sinh này có khả năng gây đề kháng chéo với nhóm oxazolidinone.

Cấu trúc tinh thể đồng kết tinh giữa linezolid và ribosome cho thấy thuốc này tương tác với các nucleotide của rRNA 23S cấu thành r50S:

- Vòng oxazolidinone tạo liên kết van der Waals với base của U2539; NH của nhóm acetamide tạo liên kết hydro với nhóm phosphate của G2540.

- Vòng fluorophenyl tạo liên kết kiểu stacking với base của C2487, đồng thời tạo liên kết kiểu T-shaped với base của A2486.

- Vòng morpholine không có tương tác nào đáng chú ý với r50S. Điều này giải thích cho khả năng thay đổi cấu trúc ở vị trí này mà không ảnh hưởng nhiều đến hoạt tính [2].



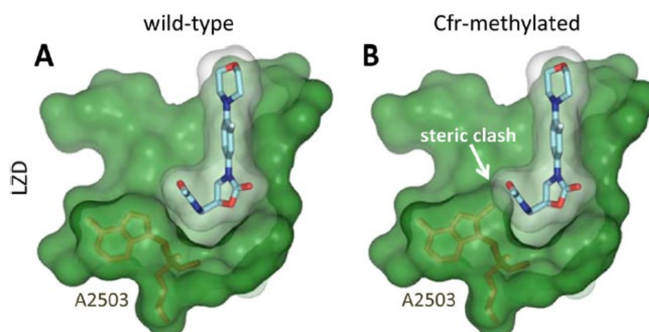
Hình 5.12.3. Cấu trúc tinh thể đồng kết tinh của r50S và linezolid. Các đơn vị nucleotide có tương tác trực tiếp với linezolid được ghi chú (CCA-Phe là một dẫn xuất của aminoacyl-tRNA) [2]

3. CƠ CHẾ ĐỀ KHÁNG CỦA VI KHUẨN

Các chủng đề kháng xuất hiện chỉ sau một thời gian ngắn linezolid được lưu hành. Các cơ chế đề kháng phổ biến nhất là:

- Đột biến thay đổi các nucleotide của rRNA 23S (làm giảm ái lực của thuốc lên đích tác động).

- Sản xuất enzyme thay đổi cấu trúc các nucleotide của rRNA 23S: *Cfr* là một methyltransferase có nhiệm vụ gắn nhóm methyl lên vị trí C-8 của nucleotide A2503. Nhóm methyl này gây hiệu ứng cản trở không gian (steric clash) đối với nhóm acetamide của linezolid [3].



Hình 5.12.4. Cản trở không gian của nhóm methyl do *Cfr* gắn lên r50s [4]

- Sản xuất bơm ngược (efflux pump). Vi khuẩn gram âm *(E. coli, Citrobacter freundii* và *Enterobacter aerogenes)* đề kháng tự nhiên với linezolid do có hệ thống bơm ngược đẩy thuốc ra khỏi tế bào vi khuẩn. Một số chủng *Streptococcus pneumonia* và *Staphylococcus aureus* xuất hiện đề kháng cũng có khả năng sản xuất bơm ngược [5].

4. CÁC THUỐC TRONG NHÓM

4.1. Linezolid

Linezolid có sinh khả dụng đường uống 100% nên không cần chuyển đổi liều lượng khi chuyển từ đường uống sang đường tiêm. Thuốc có dạng bào chế dùng đường uống (viên bao phim, hỗn dịch) và đường tiêm tĩnh mạch.

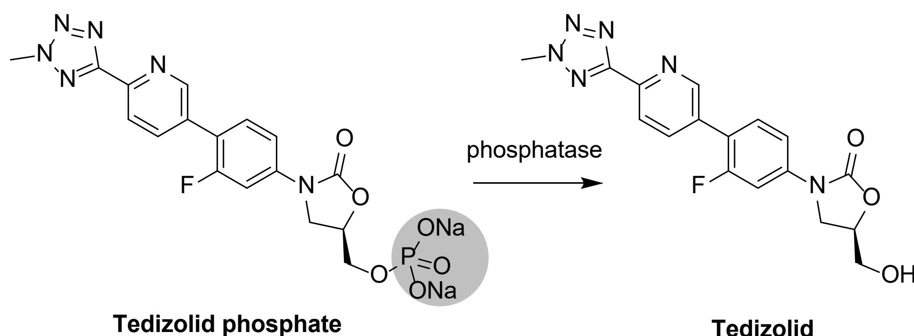
Thuốc bị chuyển hóa thành các chất không có hoạt tính như hydroxyethyl glycine và aminoethoxyacetic acid [6].

Linezolide có phổ kháng khuẩn trên hầu hết các vi khuẩn gram dương. Linezolid là kháng sinh kìm khuẩn đối với enterococci và staphylococci; là kháng sinh diệt khuẩn đối với streptococci: *Staphylococcus aureus* (kể cả MRSA), *Streptococcus agalactiae* (streptococci nhóm B), *S. pneumoniae,* và *S. pyogenes* (β-hemolytic streptococci nhóm A), *S. epidermidis* (kể cả các chủng kháng methicillin), *S. haemolyticus,* streptococci nhóm viridans, *Corynebacterium* spp; *E. faecium, Enterococcus faecium* (kể cả chủng kháng vancomycin), *E. faecalis* (kể cả chủng kháng vancomycin).

Linezolid có tác dụng trên *Mycobacterium tuberculosis,* kể cả các chủng đa đề kháng (multiple-drug resistant-MDR) và siêu kháng thuốc (extensively drug-resistant-XDR) [7].

4.2. Tedizolid

Tedizolid được sử dụng dưới dạng tiền dược tedizolid phosphate disodium để làm tăng độ tan, tăng sinh khả dụng đường uống và có thể sử dụng dưới dạng dung dịch tiêm tĩnh mạch. Sau khi được hấp thu, nhóm phosphate bị thủy phân bởi các phosphatase, giải phóng tedizolid.



Hình 5.12.5. Tiền dược tedizolid phosphate disodium

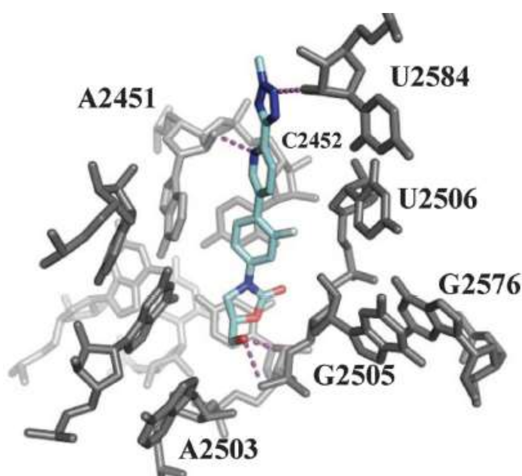
Tedizolid có hoạt tính kháng khuẩn tốt hơn so với linezolid, thậm chí trên các chủng đề kháng với linezolid.

Bảng 5.12.1. MIC của tedizolid và linezolid trên các chủng đề kháng với linezolid [8,9]

	MIC_{90} (µg/mL)	
	Linezolid	Tedizolid
Staphylococcus aureus	16	2
Staphylococcus epidermidis	128	8
Enterococcus faecalis	32	4
Enterococcus faecium	64	4
Mycobacterium tuberculosis	1	0.5

So sánh cấu trúc linezolid và tedizolid giúp giải thích cho việc cải thiện hoạt tính kháng khuẩn. Nhóm acetamide của linezolid được thay thế bởi nhóm hydroxymethyl vẫn tạo được liên kết hydro với r50S, đồng thời làm giảm cản trở không gian ở các chủng vi khuẩn đột biến methyl hóa nucleotide A2503 của r50S [4].

Mô hình docking của tedizolid lên r50S cũng cho thấy N của vòng pyridinyl và vòng tetrazolyl góp phần tạo liên kết hydro làm tăng ái lực của thuốc lên đích tác động (Hình 5.12.6) [10].



Hình 5.12.6. Mô hình docking của tedizolid lên r50S [10]

5. LIÊN QUAN CẤU TRÚC - TÁC DỤNG [11]

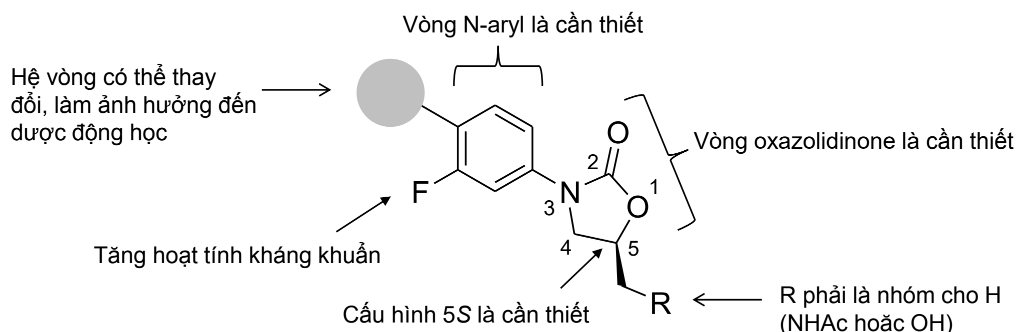
- Cấu hình 5*S* của vòng oxazolidinone là cần thiết cho hoạt tính kháng khuẩn.

- Nhóm thế trên vị trí 5 của vòng oxazolidinone cần có nhóm cho H để tạo liên kết hydro với r50S.

- Nhóm N-aryl thế trên vị trí 3 của vòng oxazolidinone là cần thiết.

- Nhóm -F gắn trên vòng N-aryl làm tăng hoạt tính kháng khuẩn.

- Vị trí *para* của vòng N-aryl cho phép gắn nhiều cấu trúc vòng khác nhau để thay đổi dược động học của hoạt chất.



Hình 5.12.7. Quan hệ cấu trúc - tác dụng của kháng sinh nhóm oxazolidinone

6. ỨNG DỤNG TRONG TRỊ LIỆU

Linezolid được chỉ định điều trị các bệnh nhiễm trùng gây ra bởi các chủng vi khuẩn gram dương nhạy cảm với thuốc trong các trường hợp sau:

Viêm phổi

Viêm phổi bệnh viện gây ra bởi *Staphylococcus aureus* (nhạy cảm/đề kháng với methicillin) hoặc *Streptococcus pneumoniae;* Viêm phổi mắc phải cộng đồng gây ra bởi *Streptococcus pneumoniae,* hoặc *Staphylococcus aureus* (chỉ trên chủng nhạy cảm với methicillin).

Nhiễm trùng da và cấu trúc da

Nhiễm trùng da và cấu trúc da có biến chứng, bao gồm nhiễm trùng bàn chân ở bệnh nhân đái tháo đường, nhưng không có viêm xương tủy (osteomyelitis), *gây ra bởi Staphylococcus aureus* (nhạy cảm/đề kháng với methicillin), *Streptococcus pyogenes* hoặc *Streptococcus agalactiae.*

Nhiễm trùng da và cấu trúc da không biến chứng gây ra bởi *Staphylococcus aureus* (chỉ trên chủng nhạy cảm với methicillin) hoặc *Streptococcus pyogenes.*

Nhiễm trùng do Enterococcus faecium đề kháng vancomycin [12].

Điều trị lao kháng thuốc

Năm 2019, phối hợp thuốc BPaL (bedaquiline, pretomanid và linezolid) được WHO khuyến nghị có thể được áp dụng điều trị lao đa kháng và siêu kháng thuốc trong trường

hợp không thể sử dụng các phác đồ đã có (đề kháng, không dung nạp thuốc,...). Tuy nhiên các tác dụng phụ nghiêm trọng của linezolid là một rào cản trong việc sử dụng thuốc [13,14].

Tedizolid được chỉ định điều trị viêm da và cấu trúc da cấp tính gây ra bởi các chủng vi khuẩn gram dương nhạy cảm với thuốc: *Staphylococcus aureus* (nhạy cảm/ đề kháng với methicillin), *Streptococcus pyogenes, Streptococcus agalactiae,* nhóm *Streptococcus anginosus* (bao gồm *Streptococcus anginosus, Streptococcus intermedius,* và *Streptococcus constellatus*), và *Enterococcus faecalis* [15].

7. TÁC DỤNG PHỤ - ĐỘC TÍNH

Ức chế tủy xương

Do sự tương đồng về cấu trúc giữa rRNA 23S của vi khuẩn và RNA 16S của ty thể của tế bào người, các thuốc kháng sinh có đích tác động là rRNA 23S của vi khuẩn có thể gây độc tính trên tế bào người do khả năng gắn kết trên RNA 16S của ty thể và gây rối loạn hoạt động của ty thể. Độc tính trên ty thể đặc biệt thể hiện rõ ở các cơ quan cần nhiều năng lượng như tế bào tủy xương, gây ức chế tủy xương có hồi phục (thiếu máu, giảm tiểu cầu, giảm bạch cầu) [16].

Độc tính thường xảy ra ở bệnh nhân phải sử dụng thuốc trên 2 tuần.

Ảnh hưởng dây thần kinh thị giác và thần kinh ngoại biên

Các triệu chứng trên thị giác thường xuất hiện ở bệnh nhân sử dụng thuốc trên 28 ngày, có thể dẫn đến mù lòa.

Hội chứng serotonin

Hội chứng serotonin (kích động, lo lắng, tim nhanh, tăng huyết áp, run, tiêu chảy,...) xuất hiện khi linezolid được sử dụng đồng thời với các thuốc tác động lên hệ serotonin (SSRI, SNRI, thuốc chống trầm cảm ba vòng,...). Nguyên nhân là do linezolid có khả năng ức chế yếu, thuận nghịch và không chọn lọc enzyme monoamine oxidase (MAO) [17,18].

Câu hỏi tự lượng giá

Dựa vào cấu trúc, giải thích tại sao tedizolid có hoạt tính trên các chủng vi khuẩn đề kháng linezolid?

Danh mục từ viết tắt

FDA: U.S. Food and Drug Administration

MAO: monoamine oxidase

MDR: multiple-drug resistant

MRSA: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

r50S: tiểu đơn vị ribosome 50S

SSRI: Selective serotonin reuptake inhibitors

SNRI: Serotonin and norepinephrine reuptake inhibitors

WHO: World Health Organization

XDR: extensively drug-resistant

Tài liệu tham khảo

1. Barbachyn MR, Ford CW. Oxazolidinone structure-activity relationships leading to linezolid. Angew Chem Int Ed Engl. 2003 May; 42(18):2010-2023.
2. Ippolito JA, Kanyo ZF, Wang D, Franceschi FJ, Moore PB, Steitz TA, Duffy EM. Crystal structure of the oxazolidinone antibiotic linezolid bound to the 50S ribosomal subunit. J Med Chem. 2008 Jun; 51(12):3353-3356.
3. Long KS, Vester B. Resistance to linezolid caused by modifications at its binding site on the ribosome. Antimicrob Agents Chemother. 2012 Feb; 56(2):603-612.
4. Locke JB, Finn J, Hilgers M, Morales G, Rahawi S, G C K, Picazo JJ, Im W, Shaw KJ, Stein JL. Structure-activity relationships of diverse oxazolidinones for linezolid-resistant *Staphylococcus aureus* strains possessing the cfr methyltransferase gene or ribosomal mutations. Antimicrob Agents Chemother. 2010 Dec; 54(12):5337-5343.
5. Schumacher A, Trittler R, Bohnert JA, Kümmerer K, Pagès JM, Kern WV. Intracellular accumulation of linezolid in *Escherichia coli, Citrobacter freundii* and *Enterobacter aerogenes:* role of enhanced efflux pump activity and inactivation. J. Antimicrob. Chemother. 2007 Jun; 59(6):1261-1264.
6. Dryden MS. Linezolid pharmacokinetics and pharmacodynamics in clinical treatment. J Antimicrob Chemother. 2011 May; 66 Suppl 4:iv7-iv15.
7. https://www.drugs.com/monograph/linezolid.html#r1
8. Shaw KJ, Poppe S, Schaadt R, Brown-Driver V, Finn J, Pillar CM, Shinabarger D, Zurenko G. In vitro activity of TR-700, the antibacterial moiety of the prodrug TR-701, against linezolid-resistant strains. Antimicrob Agents Chemother. 2008 Dec; 52(12):4442-4447.

9. Ruiz P, Causse M, Vaquero M, Casal M. *In Vitro* Activity of Tedizolid against *Mycobacterium tuberculosis*. Antimicrob Agents Chemother. 2019 Mar 27; 63(4):e01939-18.
10. Shaw KJ, Poppe S, Schaadt R, Brown-Driver V, Finn J, Pillar CM, et al. In vitro activity of TR-700, the antibacterial moiety of the prodrug TR-701, against linezolid-resistant strains. Antimicrob Agents Chemother. 2008 Dec; 52(12):4442-4447.
11. Barbachyn MR, Ford CW. Oxazolidinone structure-activity relationships leading to linezolid. Angew Chem Int Ed Engl. 2003 May 9; 42(18):2010-2023.
12. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2010/021131s020lbl.pdf
13. Singh B, Cocker D, Ryan H, Sloan DJ. Linezolid for drug-resistant pulmonary tuberculosis. Cochrane Database Syst Rev. 2019 Mar; 3(3):CD012836.
14. Rapid Communication: Key changes to the treatment of drug-resistant tuberculosis, WHO, 2019.
15. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2019/205436s005lbl.pdf
16. McKee EE, Ferguson M, Bentley AT, Marks TA. Inhibition of mammalian mitochondrial protein synthesis by oxazolidinones. Antimicrob Agents Chemother. 2006 Jun; 50(6):2042-2049.
17. Wasserman S, Meintjes G, Maartens G. Linezolid in the treatment of drug-resistant tuberculosis: the challenge of its narrow therapeutic index. Expert Rev Anti Infect Ther. 2016 Oct; 14(10):901-915.
18. https://www.drugs.com/monograph/linezolid.html#r1

5.13. THUỐC KHÁNG LAO

Các hoạt chất được đề cập

Isoniazid	Ethambutol	Terizidone
Rifamycin SV	Ethionamide	Bedaquiline
Rifampicin	Prothionamide	Clofazimine
Rifapentin	*p*-amino salicylic acid	Delamanid
Rifabutin	D-Cycloserine	Pretomanid
Pyrazinamide		

1. GIỚI THIỆU

1.1. Bệnh lao

Bệnh lao gây ra bởi trực khuẩn lao, *Mycobacterium tuberculosis,* do Robert Koch tìm ra năm 1882 nên còn được gọi là vi trùng Koch hay BK (Bacille de Koch). Theo WHO, đây là bệnh truyền nhiễm thường gặp và gây tử vong hàng đầu trên thế giới. Mặc dù bệnh có thể phòng ngừa và điều trị được, mỗi ngày vẫn có hơn 4.000 người tử vong và gần 30.000 người mắc bệnh. Lao kháng thuốc là mối đe dọa nghiêm trọng đối với ngành y tế. Việt Nam nằm trong 30 quốc gia có gánh nặng bệnh lao cao nhất thế giới. Năm 2018, ước tính có khoảng 174.000 người mắc mới và 11.000 người tử vong do bệnh lao (theo WHO).

Bệnh lao từng được đánh giá là đang trên đà bị xóa sạch trên toàn thế giới nhờ vào kết quả của các biện pháp dự phòng tích cực và hóa trị hiệu quả. Tuy nhiên, bệnh đã trở lại với tỷ lệ đáng báo động trong những năm gần đây. Nguyên nhân có thể do đại dịch AIDS, việc nới lỏng chính sách y tế dự phòng ở nhiều nước, tình trạng quá tải và vô gia cư ở các thành phố lớn và sự xuất hiện ngày càng nhiều của các chủng *M. tuberculosis* đa kháng - đó là những chủng vi khuẩn kháng với hai thuốc chống lao tốt nhất hiện nay, isoniazid và rifampicin. Do đó, thế giới vẫn chưa thể chấm dứt bệnh lao.

Vi khuẩn lao gây bệnh chủ yếu ở phổi, tiếp đến là não, xương, gan và thận. Các triệu chứng nghi ngờ lao khi ho kéo dài liên tục hơn 2 tuần (có thể là ho khan, ho đờm hoặc ho ra máu), sốt nhẹ về chiều, mệt mỏi, giảm cân, đau ngực, khó thở. Tùy thuộc vị trí lây nhiễm, có thể phân loại bệnh như sau:

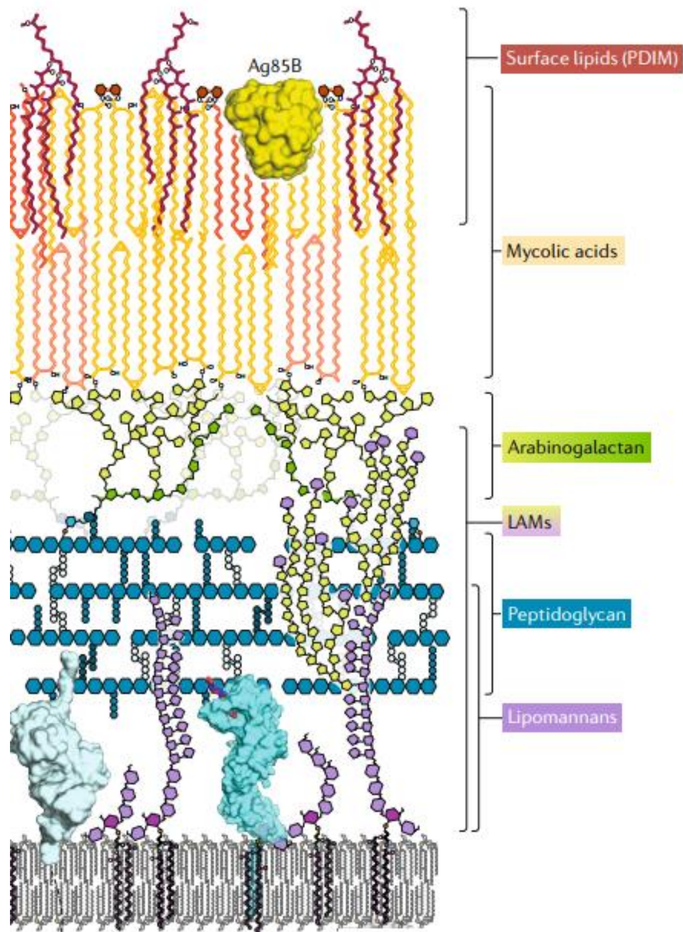
- Lao phổi (lao đường hô hấp): Bệnh lao gây tổn thương ở phổi - phế quản. Lao kê là thể lao phổi có tổn thương rộng, có hang hai bên hoặc tổn thương nhu mô phổi diện rộng với triệu chứng sốt cao, khó thở, tím tái [1,2].

- Lao ngoài phổi: Bệnh lao gây tổn thương tại các cơ quan ngoài phổi như màng phổi, hạch, màng bụng, sinh dục tiết niệu, xương, khớp, màng não... [1].

1.2. Trực khuẩn lao

Trực khuẩn lao là vi khuẩn hiếu khí hoàn toàn. Thành tế bào của trực khuẩn có sự khác biệt so với các vi khuẩn khác. Chính sự khác biệt này tạo nên đặc điểm bệnh học và độc tính của vi khuẩn lao.

Thành tế bào của vi khuẩn lao chứa tỷ lệ lipid cao nên rất kỵ nước, có khả năng kháng cồn, acid, kiềm và một số hóa chất. Lớp lipid nằm ở phía ngoài (surface lipid) được liên kết với lớp mycolic acid - thành phần đặc trưng của vách tế bào vi khuẩn lao (Hình 5.13.1). Tiếp theo là lớp peptidoglycan. Peptidoglycan, arabinogalactan và mycolic acid liên kết cộng hóa trị tạo thành cấu trúc đại phân tử mycolyl-arabinogalactan-peptidoglycan (MAGP), đây chính là lõi của thành tế bào trực khuẩn lao. Sự liên kết giữa lipid và mycolic acid, cùng với cấu trúc đại phân tử như MAGP làm màng tế bào vi khuẩn càng ít thấm nước và các tác nhân khác. Lớp trong cùng là màng tế bào cấu tạo bởi phospholipid. Ngoài ra, vi khuẩn sống trong đại thực bào (vi khuẩn nội bào) còn có thêm một lớp phía ngoài, đó là peptidoglycolipid [3,4].



Hình 5.13.1. Cấu tạo thành tế bào vi khuẩn lao [3]

Đặc điểm cấu trúc thành tế bào đặc biệt giúp vi khuẩn lao có sức sống dai dẳng, có thể phát triển trong đại thực bào, tránh sự tấn công của kháng thể, kháng lại nhiều nhóm kháng sinh.

Vì cấu tạo thành tế bào bất thường nên vi khuẩn lao kháng lại phương pháp nhuộm gram thông thường. Do có khả năng kháng lại sự tẩy màu bằng dung dịch acid - cồn, mycobacteria thuộc nhóm kháng acid (acid-fast bacteria). Để phát hiện vi khuẩn cần

phương pháp nhuộm đặc biệt là "acid-fast stain", thường dùng là kỹ thuật Ziehl-Neelsen. Ngoài ra, có thể phát hiện trực khuẩn lao bằng kỹ thuật khuếch đại gen PCR (Polemerase Chain Reaction).

Trong cơ thể, trực khuẩn lao tồn tại dưới ba dạng:

- Dạng hoạt động, đây là dạng có sự chuyển hóa và phát triển mạnh mẽ (thường ở các hang lao pH trung tính, nhiều oxygen).

- Dạng bán hoạt động, trực khuẩn tồn tại ở môi trường pH thấp và có hoạt động trao đổi chất thấp (ổ bã đậu).

- Dạng không hoạt động trong đại thực bào (pH acid, thiếu oxygen), số lượng vi khuẩn ít, khả năng sống sót cao. Đây là dạng gây tái phát và gây thất bại điều trị.

1.3. Thuốc kháng lao

Hầu hết các thuốc kháng lao hiện nay có hoạt tính đối với dạng hoạt động. Một số thuốc có tác dụng trên cả ba dạng trực khuẩn lao. Trong khi đó, hóa trị liệu thành công khi thuốc có khả năng kháng lại tất cả các dạng của trực khuẩn lao, đặc biệt là dạng không hoạt động. Để có hiệu quả tốt nhất, việc sử dụng liệu pháp phối hợp thuốc trong thời gian dài là liệu pháp điều trị phù hợp nhất hiện nay.

Thời gian thế hệ của vi khuẩn lao rất dài, khoảng 15 - 20 giờ và thuốc chỉ có tác dụng vào giai đoạn phân bào nên chỉ cần uống thuốc 1 lần/ngày và phải dùng trong nhiều ngày. Sau khi tiếp xúc với thuốc, một số trực khuẩn lao chuyển sang trạng thái ngủ, lúc này thuốc kém tác dụng nên cần dùng thuốc cách quãng (2 - 3 lần/tuần).

Việc điều trị gặp khó khăn do vi khuẩn lao đa kháng thuốc và thiếu các loại thuốc mới. Thực tế, trong 45 năm qua chỉ có ba thuốc mới ra đời là bedaquiline, delamanid và pretomanid. Sự thay đổi duy nhất trong việc điều trị là sử dụng phương pháp điều trị lao ngắn hạn có kiểm soát trực tiếp (DOTS - Directly Observed Treatment Short course), tập trung vào việc chăm sóc y tế cho bệnh nhân. Ngoài ra, mặc dù thời gian điều trị đã được rút ngắn thông qua việc sử dụng thuốc kết hợp trong 6 tháng, sự tuân thủ của bệnh nhân tiếp tục là một vấn đề quan trọng, có thể liên quan đến sự phát triển đề kháng của vi khuẩn [4].

Thuốc dùng trong điều trị lao có thể chia thành 2 loại chính [1,2,5]

- *Thuốc hàng đầu:*

+ Isoniazid, rifampicin, pyrazinamide, ethambutol, streptomycin.

+ Tổ chức Y tế Thế giới bổ sung thêm: rifabutin, rifapentine [6].

- *Thuốc hàng thứ hai:*

Thuốc điều trị lao hàng thứ hai được phân nhóm theo Bảng 5.13.1.

Bảng 5.13.1. Các thuốc kháng lao hàng thứ hai

Nhóm A	Levofloxacin hoặc moxifloxacin Bedaquiline Linezolid
Nhóm B	Clofazimine Cycloserine hoặc terizidone
Nhóm C	Ethambutol Delamanid Pyrazinamide Imipenem + cilastatin hoặc meropenem Amikacin hoặc streptomycin Ethionamide hoặc prothionamide *p*-aminosalicylic acid

(Chọn cả ba thuốc nhóm A + một hoặc cả hai thuốc nhóm B. Các thuốc nhóm C dùng để hoàn chỉnh phác đồ khi không thể sử dụng một số thuốc nhóm A và B).

Phần lớn bệnh nhân được điều trị bằng các thuốc hàng đầu đều có hiệu quả tốt sau 6 tháng. Các tác nhân hàng thứ hai có hoạt tính kháng khuẩn nhưng chúng thường ít dung nạp hơn hoặc có nhiều tác dụng phụ hơn so với nhóm thuốc hàng đầu. Thuốc hàng thứ hai thường được sử dụng trong các trường hợp lao đa kháng thuốc (MDR-TB), tái điều trị hoặc không dung nạp với các loại thuốc hàng đầu.

Liệu pháp phối hợp hai hoặc nhiều loại thuốc có thể làm giảm sự xuất hiện của các chủng lao kháng thuốc. Sự phối hợp phụ thuộc vị trí nhiễm bệnh (phổi, niệu sinh dục, đường tiêu hóa hoặc thần kinh), kết quả xét nghiệm về độ nhạy cảm và mô hình đề kháng tại địa phương, thể chất và tuổi tác của bệnh nhân, độc tính của thuốc.

Các dạng lao kháng thuốc [2]

- Kháng đơn thuốc: Chỉ kháng với duy nhất một thuốc chống lao hàng một khác rifampicin.

- Lao kháng rifampicin: Kháng với rifampicin, có hoặc không kháng thêm với các thuốc lao khác. Ở Việt Nam hiện nay, 90% chủng kháng với rifampicin có kèm theo kháng isoniazid, vì vậy khi phát hiện kháng rifampicin người bệnh được coi như đa kháng thuốc.

- Kháng nhiều thuốc (Poly-resistant MB): Kháng với từ hai thuốc chống lao hàng một trở lên mà không cùng đồng thời kháng với isoniazid và rifampicin.

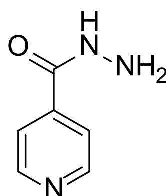
- Đa kháng thuốc (MDR-TB = multidrug resistant tuberculosis): Kháng đồng thời với ít nhất hai thuốc chống lao là isoniazid và rifampicin.

- Tiền siêu kháng (pre-XDR-TB): Lao đa kháng có kháng thêm với bất cứ thuốc nào thuộc nhóm fluoroquinolone.

- Siêu kháng thuốc (XDR-TB = extensively drug resistant tuberculosis): Lao đa kháng có kháng thêm với bất cứ thuốc nào thuộc nhóm fluoroquinolone và với ít nhất một thuốc hàng hai nhóm A.

2. CÁC THUỐC ĐIỀU TRỊ BỆNH LAO

2.1. Isoniazid (INH)



Hình 5.13.2. Isoniazid

Tên gọi khác: Rimifon, isonicotinic acid hydrazide (INH), isonicotinoylhydrazine.

Tên IUPAC: Pyridine-4-carboxylic acid hydrazide.

Được phát hiện vào những năm 1950, INH là thuốc đầu tiên dùng cho điều trị lao. INH là kháng sinh tổng hợp có hoạt tính trên trực khuẩn lao nội bào và ngoại bào và là thuốc chính để điều trị lao.

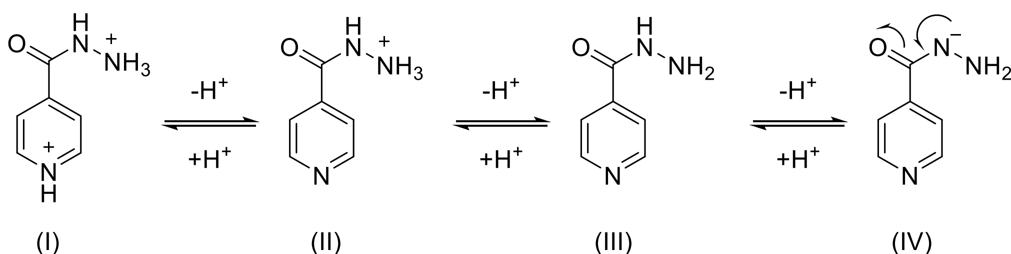
2.1.1. Tính chất lý hóa

- Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng hoặc tinh thể không màu, dễ tan trong nước, ít tan trong cồn.

- Điểm chảy từ 170-174 °C.

- INH có tính lưỡng tính với 3 giá trị pK_a tương ứng là 1.85; 3.54; 10.77.

- Trong khoảng pH từ 1 -13, INH tồn tại ở các dạng (I), (II), (III), (IV) [7].



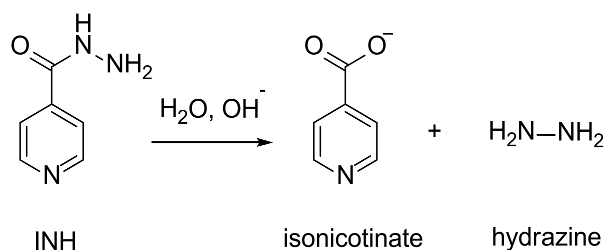
Hình 5.13.3. INH trong các môi trường pH khác nhau

Dạng 'dication' (I) có nitrogen của hydrazine và nitrogen của pyridine mang tính base nên đều bị proton hóa trong môi trường acid mạnh. Là một acid cation mạnh nhất, NH^+ của vòng pyridine cho proton trước tiên để tạo thành (II); sau cùng proton NH trong nhóm amide bị loại trong môi trường kiềm, tạo thành anion (IV).

Tính acid NH yếu phần lớn là do hiệu ứng -I của vòng pyridine.

Vì hiệu ứng -I và -M của nhóm hydrazide nên nitrogen vòng của INH có tính base yếu hơn so với nitrogen của pyridine. Trong môi trường pH sinh lý, INH tồn tại ở dạng không ion hóa (III), là dạng có ảnh hưởng quan trọng với hiệu quả của thuốc vì chỉ ở dạng này INH mới có thể thấm qua lớp vỏ lipid của trực khuẩn lao.

Do cấu trúc hydrazide, INH dễ bị thủy phân và oxy hóa. Quá trình thủy phân bởi acid xảy ra chậm, trong khi sự thủy phân trong môi trường kiềm diễn ra rất nhanh, nhất là khi có sự gia nhiệt, tạo thành isonicotinate và hydrazine (Hình 5.13.4) [7].



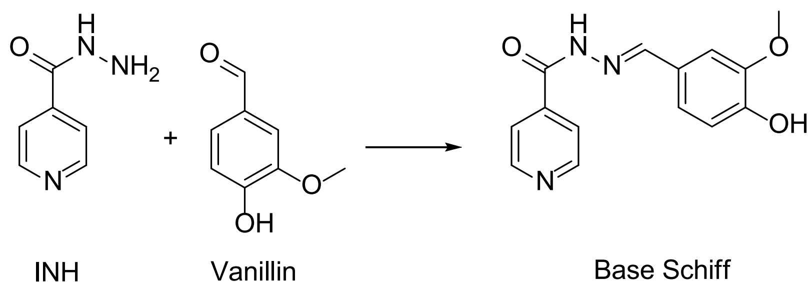
Hình 5.13.4. Phản ứng thủy phân INH trong kiềm

2.1.2. Kiểm nghiệm

- *Định tính:*

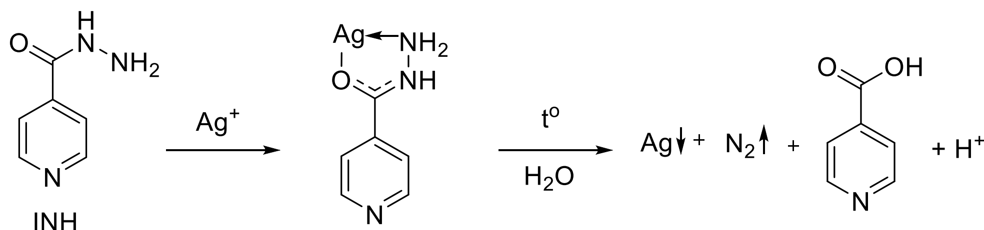
+ Phản ứng với aldehyde thơm.

Do có nhóm hydrazine, INH phản ứng với vanillin tạo base Schiff (hay hydrazone) có thể được tái kết tinh trong ethanol 70%, tinh thể thu được có điểm nóng chảy ở 227 °C [7].



Hình 5.13.5. Phản ứng của INH và vanilin

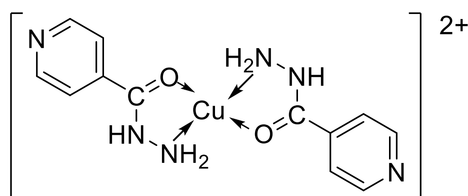
+ Trong môi trường trung tính, INH tạo phức với ion bạc, phức chất này bị phân hủy bởi nhiệt giải phóng khí nitrogen, tạo tủa bạc và isonicotinic acid [7].



Hình 5.13.6. Phản ứng của INH và Ag^+

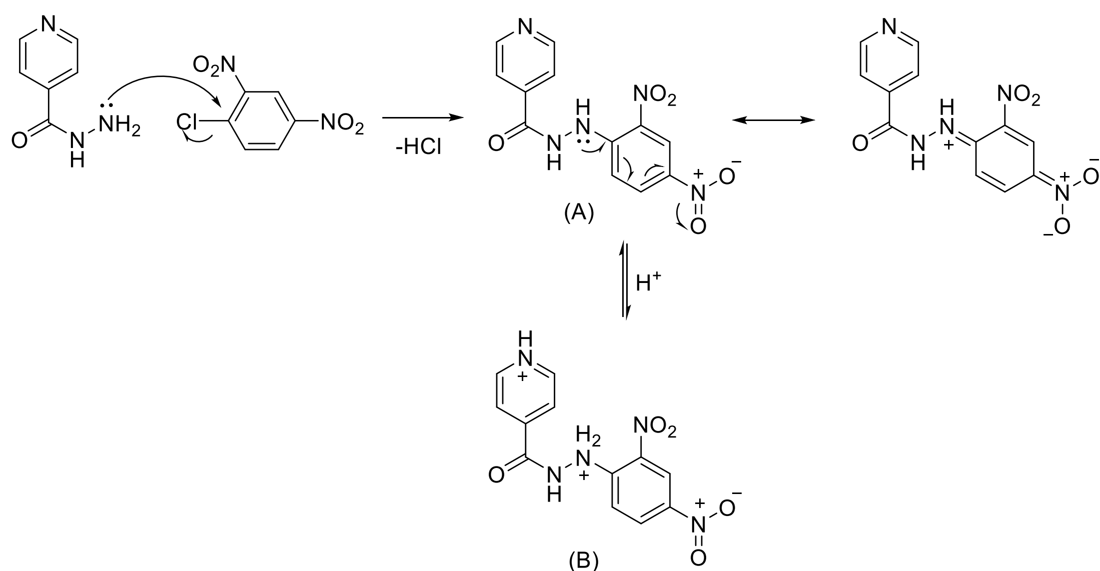
+ Khi đun nóng với Na_2CO_3 khan, INH bị phân hủy và cho mùi pyridine.

+ INH phản ứng với dung dịch đồng sulfate thu được tủa có màu xanh do tạo phức với Cu^{2+}. Khi đun nóng, khí nitrogen được giải phóng và tủa xám đỏ (Cu_2O) được tạo thành do nhóm hydrazide khử Cu (II) thành Cu (I).



Hình 5.13.7. Cấu trúc phức chất của INH với Cu (II)

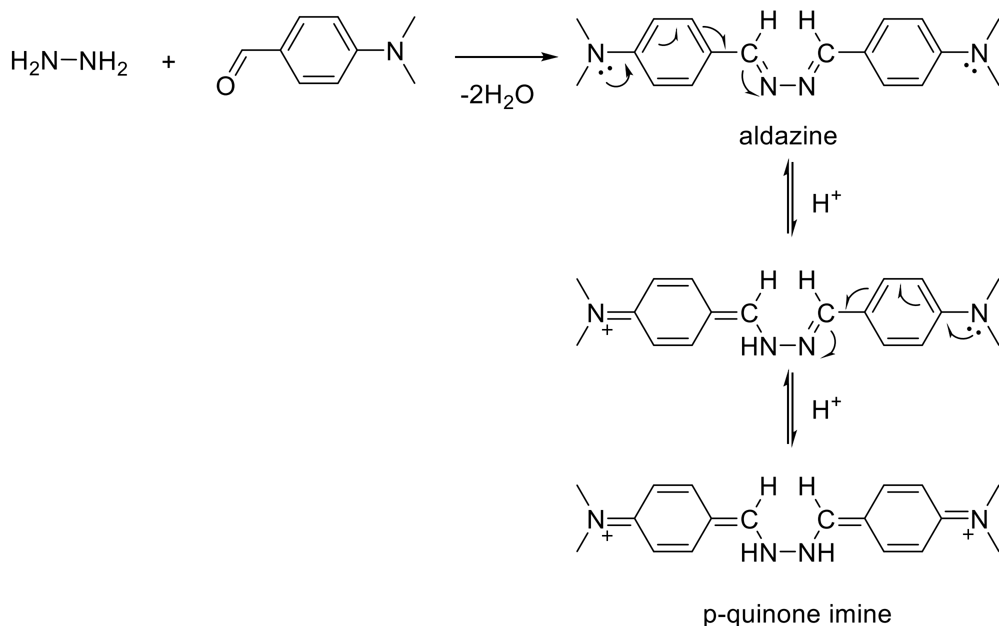
+ Phản ứng trong môi trường kiềm với 1-chloro-2,4-dinitrobenzene. Do nitrogen *sp*^{3} (-NH_2) của hydrazine có tính ái nhân mạnh hơn và tham gia phản ứng thế ái nhân trên vòng thơm (aromatic nucleophilic substitution, S_NAr) với 1-chloro-2,4-dinitrobenzene, tạo thành 2,4-dinitrophenylhydrazide (A) có màu xám đỏ. Chất (A) khi bị proton hóa chuyển thành (B) có màu vàng [7].



Hình 5.13.8. Phản ứng của INH với 1-chloro-2,4-dinitrobenzene

- *Thử tinh khiết:*

Kiểm tra sự hiện diện của hydrazine bằng cách cho chế phẩm ngưng tụ với 4-dimethylaminobenzaldehyde trong hydrochloric acid. Hydrazine có trong chế phẩm tạo sản phẩm aldazine, khi bị proton hóa tạo cấu trúc *p*-quinone imine có màu vàng-cam. Sản phẩm này được phát hiện bằng cách đo phổ hấp thu UV-Vis ở 450-460 nm [7].



Hình 5.13.9. Phản ứng tạo màu giữa hydrazine và 4-dimethylaminobenzaldehyde

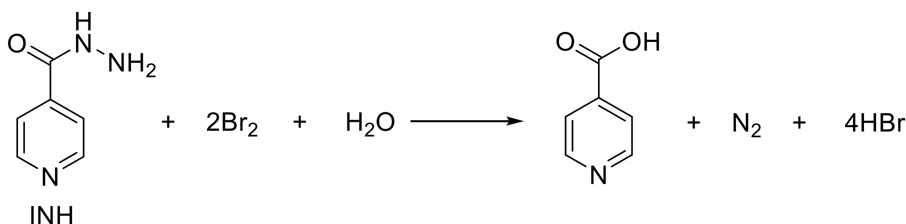
- Định lượng:

Phép đo brom

Thêm dung dịch $KBrO_3$ vào một dung dịch chứa INH và KBr trong môi trường acid (HCl). KBr phản ứng với $KBrO_3$ giải phóng Br_2. Br_2 tạo ra sẽ oxy hóa INH, giải phóng N_2 và HBr. Có thể dùng phương pháp đo điện thế hoặc dùng chỉ thị đỏ methyl (đến khi mất màu đỏ) để xác định điểm kết thúc chuẩn độ [7,8].

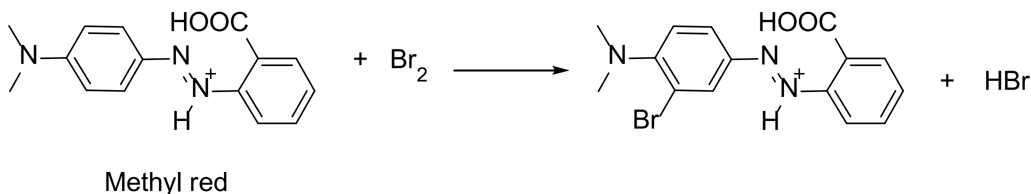


$$BrO_3^- + 5Br^- + 6H^+ \rightarrow 3Br_2 + 3H_2O$$



Hình 5.13.10. Các bước phản ứng trong định lượng INH bằng bromate/bromide

Chỉ thị được sử dụng là đỏ methyl vì khi INH bị oxy hóa hết, lượng dư Br_2 được tạo ra sẽ brom hóa đỏ methyl tạo sản phẩm không màu.

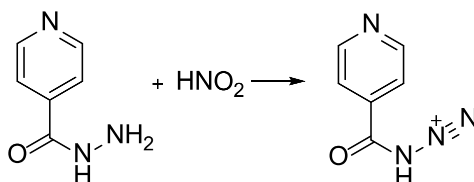


Hình 5.13.11. Phản ứng của Br_2 với chỉ thị đỏ methyl

Ngoài brom, một số chất oxy hóa khác cũng có thể dùng, ví dụ KIO_3, KIO_4, *N*-bromosuccinimide, chloramine T, $KMnO_4$, $K_2Cr_2O_7$, cerium (IV) sulfate.

Chuẩn độ với natri nitrite/HCl

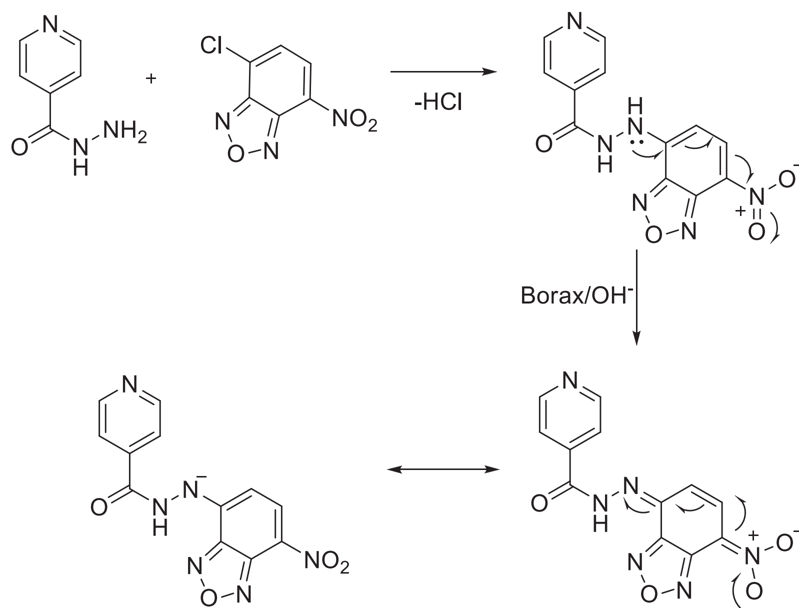
INH phản ứng với natri nitrite /HCl tạo isonicotinoyl azide.



Hình 5.13.12. Phản ứng tạo azide của isonicotinic acid

+ Chuẩn độ trong môi trường khan bằng natri methoxide trong diethylamine.

+ Phương pháp đo màu có thể dùng để định lượng INH dựa vào sự tạo thành anion màu vàng có bước sóng hấp thụ cực đại ở 467 nm khi cho chế phẩm phản ứng với 4-chloro-7-nitrobenzofurazan.

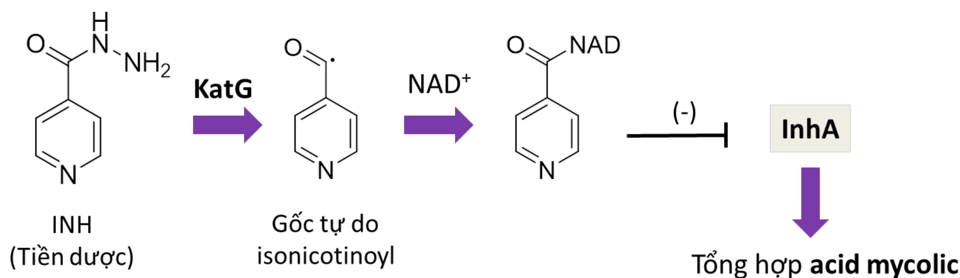


Hình 5.13.13. Phản ứng giữa INH với 4-chloro-7-nitrobenzofuran

2.1.3. Cơ chế kháng khuẩn

INH là tiền dược được enzyme KatG (là một catalase - peroxidase) trên bề mặt của vi khuẩn lao chuyển thành gốc tự do isonicotinoyl [9]. Gốc tự do này phản ứng với NAD tạo thành isonicotinoyl-NAD.

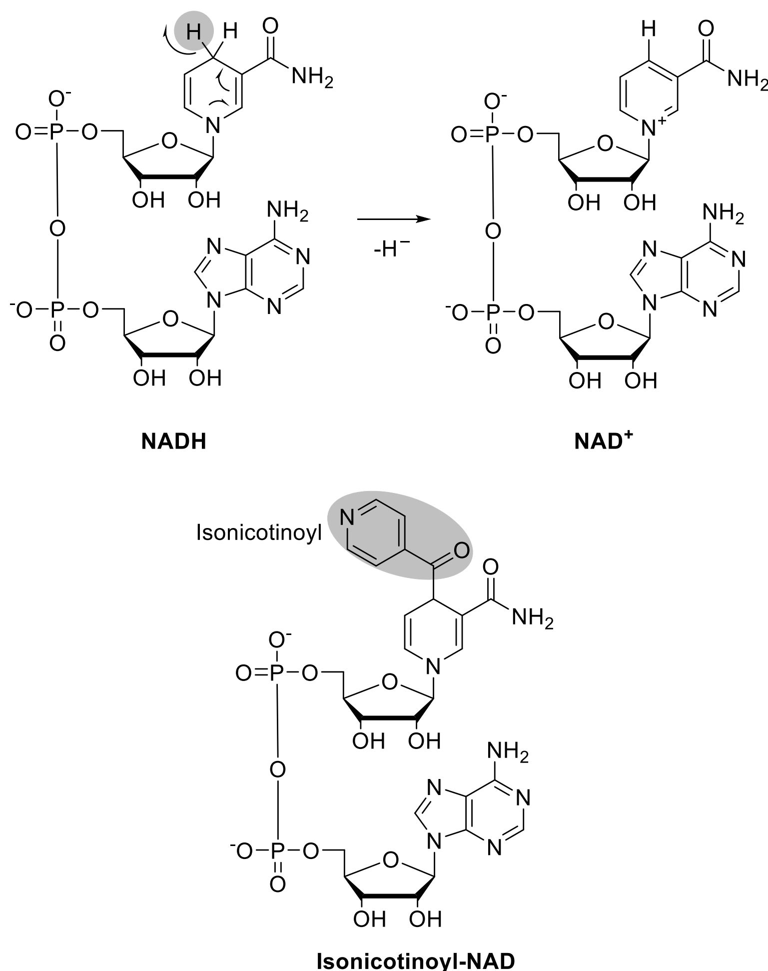
Isonicotinoyl-NAD chính là chất ức chế enzyme InhA, dẫn đến hậu quả gây ức chế quá trình sinh tổng hợp các mycolic acid - thành phần quan trọng của thành tế bào - làm thay đổi tính thấm của vi khuẩn.



Hình 5.13.14. Cơ chế tác dụng của INH

(NAD^+ = Nicotinamide adenine dinucleotide)

InhA là một reductase tham gia chuỗi phản ứng sinh hóa tổng hợp mycolic acid của vi khuẩn lao. Enzyme này có nhiệm vụ khử liên kết đôi C=C của một acid béo, sử dụng NADH làm cofactor (chất khử) [10].



Hình 5.13.15. Cấu trúc của NADH và isonicotinoyl-NAD

Cấu trúc tinh thể tia X cho thấy isonicotinoyl-NAD gắn vào cùng vị trí gắn của NADH trên InhA, nhưng vị trí cho H^- của NADH đã bị khóa nên phản ứng khử cơ chất không thể xảy ra [11].

Thuốc có hoạt tính trong giai đoạn phân chia tế bào (dạng hoạt động) của vi khuẩn nhạy cảm và có tác dụng kìm khuẩn đối với dạng bán hoạt động và không hoạt động.

2.1.4. Cơ chế đề kháng [1,12]

Dùng INH đơn độc dễ dẫn đến đề kháng. Cơ chế đề kháng có liên quan đến sự biến đổi đa gen, trong đó hai cơ chế phổ biến nhất là:

Đột biến KatG

Vì INH cần được kích hoạt bởi KatG nên đột biến trên gen mã hóa cho enzyme này là cơ chế đề kháng phổ biến nhất của vi khuẩn lao. Trong các đột biến trên KatG đã được phát hiện, đột biến serine ở codon 315 chiếm hơn 90%. Đột biến điểm này không ảnh hưởng đến chức năng thông thường của enzyme nhưng làm giảm rõ rệt khả năng kích hoạt INH.

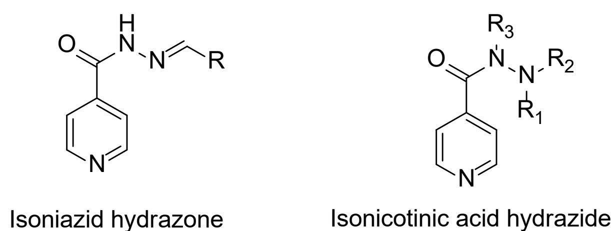
Tăng sản xuất InhA

Một cơ chế đề kháng phổ biến thứ hai là đột biến ở vùng promoter của gen mã hóa InhA, làm tăng tần suất phiên mã, làm tăng lượng InhA được sản xuất. Cơ chế này gây đề kháng chéo với các thuốc kháng lao khác có đích tác dụng là InhA (ethionamide, prothionamide).

Một số cơ chế đề kháng khác cũng đã được phát hiện như đột biến thay đổi cấu trúc InhA, bơm kháng thuốc, enzyme bát hoạt thuốc.

2.1.5. Quan hệ cấu trúc - tác dụng

Các dẫn xuất của INH đã được điều chế và đánh giá hoạt tính. Kết quả cho thấy các isoniazid hydrazone có hoạt tính nhưng không ổn định trong đường tiêu hóa. Thế trên hai nitrogen của hydrazine bằng các nhóm thế alkyl làm mất hoặc giảm hoạt tính [4].



Hình 5.13.16. Các dẫn xuất của INH

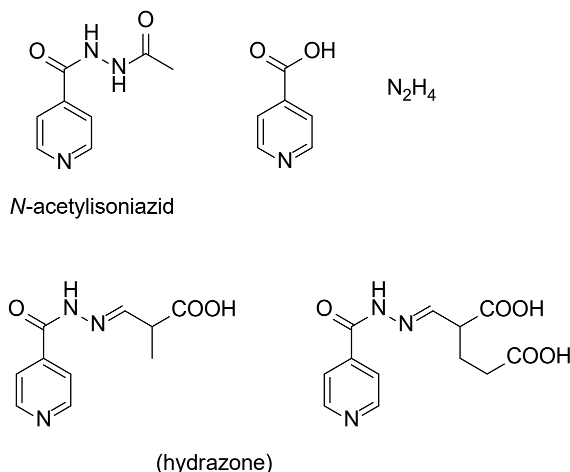
2.1.6. Dược động học

INH được hấp thu nhanh chóng và gần như hoàn toàn sau khi uống. Nồng độ cực đại trong huyết tương đạt được sau 1 - 2 giờ uống thuốc. Nên uống thuốc khi dạ dày rỗng vì thức ăn và các thuốc kháng acid, đặc biệt là chế phẩm chứa nhôm, có thể làm giảm hoặc chậm hấp thu. INH được phân phối rộng rãi đến tất cả các mô và dịch trong cơ thể, bao gồm cả dịch não tủy. Thuốc đi qua nhau thai và sữa.

INH bị acetyl hóa ở gan nhờ *N*-acetyltransferase tạo thành *N*-acetylisoniazid không còn hoạt tính. Tốc độ acetyl hóa giữa các nhóm dân số trên thế giới có khác nhau, có nhóm acetyl hóa nhanh ($T_{1/2}$ khoảng 45 - 80 phút), và nhóm acetyl hóa chậm ($T_{1/2}$ khoảng 140 - 200 phút).

Một số chất chuyển hóa khác là isonicotinic acid, hydrazine, các isonicotinyl hydrazone của pyruvic acid và ketoglutaric acid (Hình 5.13.17) [4,13].

Khoảng 60% liều uống được thải trừ qua nước tiểu trong 24 giờ.



Hình 5.13.17. Một số chất chuyển hóa của INH

2.1.7. Ứng dụng trị liệu

INH được dùng chuyên biệt trị để trị lao mặc dù nó cũng có tác dụng trên một số chủng vi khuẩn khác. INH kháng khuẩn hay diệt khuẩn phụ thuộc vào nồng độ thuốc, tính nhạy cảm của vi khuẩn lao và sự tiếp nhận của cơ thể bệnh nhân.

2.1.8. Tác dụng phụ

INH ít độc hơn các thuốc kháng lao khác như *p*-aminosalicylic acid, capreomycin, cycloserine, ethionamide. Các tác dụng phụ chính là viêm dây thần kinh ngoại vi, rối loạn tiêu hóa (táo bón, chán ăn) và độc tính với gan. Sử dụng với pyridoxine (vitamin B6) có thể ngăn ngừa các triệu chứng của viêm dây thần kinh ngoại biên. Độc tính trên gan nặng hiếm khi xảy ra khi dùng INH đơn độc. Tuy nhiên, tỷ lệ độc gan gia tăng khi sử dụng kết hợp INH với rifampin.

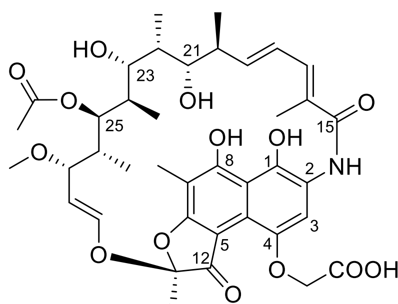
2.1.9. Dạng dùng

INH được dùng dạng uống hoặc tiêm bắp.

2.2. Rifamycins

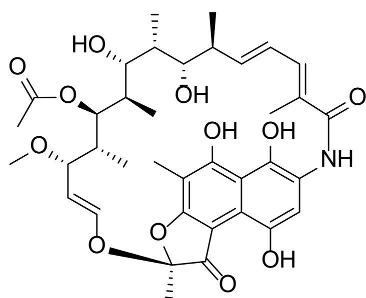
2.2.1. Cấu trúc

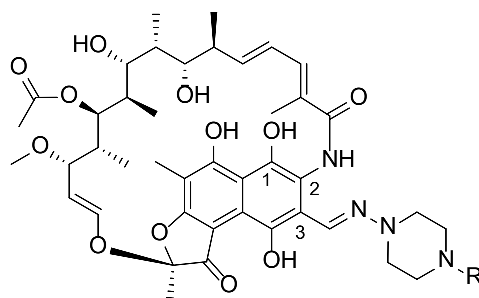
Các rifamycin (B, S, L, O,…) là các hợp chất tự nhiên được sản xuất bởi *Streptomyces mediterranei*. Phân tử có cấu trúc đặc trưng bởi nhân naphtalene nối với một chuỗi hydrocarbon tạo thành cấu trúc dạng vòng (macrocycle).

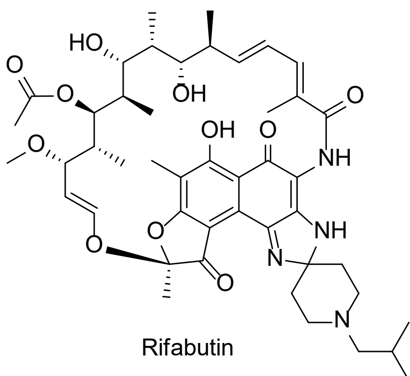


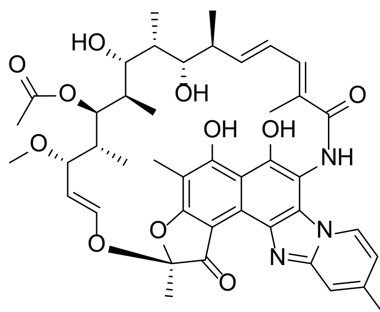
Hình 5.13.18. Rifamycin B

Rifamycin SV (cũng là một hợp chất tự nhiên, hoặc được biến đổi hóa học từ rifamycin B) là kháng sinh rifamycin đầu tiên được sử dụng trên lâm sàng (dùng đường tiêm). Sau đó, các dẫn chất bán tổng hợp ra đời do sự thế ở vị trí 3 và 4 của vòng naphtalene. Rifampicin (rifampin, RIF), rifapentine và rifabutin có ưu điểm hơn so với các rifamycin trước đây do chúng có thể dùng qua đường uống, hiệu quả cao với nhiều loại vi khuẩn gram dương, gram âm và cả trực khuẩn lao [4]. Rifaximin cũng thuộc nhóm rifamycin nhưng không hấp thu đường tiêu hóa, nên không được sử dụng điều trị lao mà có tác dụng tại chỗ để điều trị tiêu chảy do *E. coli*.







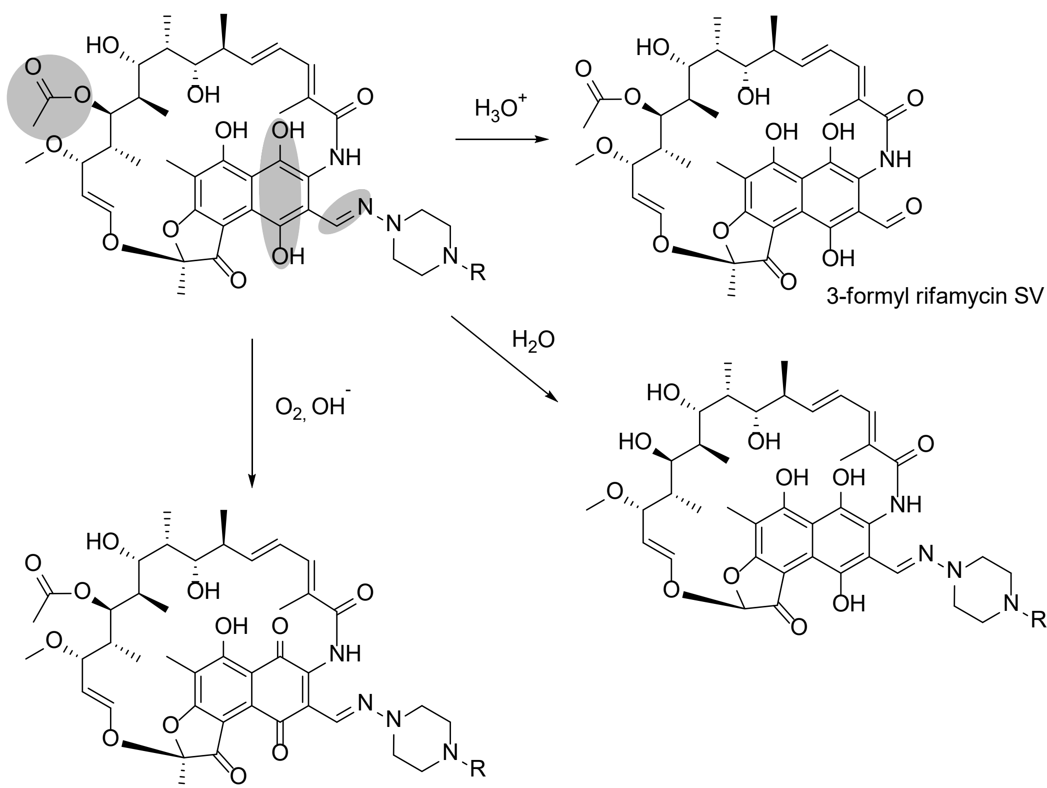


Hình 5.13.19. Các kháng sinh bán tổng hợp nhóm rifamycin

2.2.2. Tính chất lý hóa

Rifampicin và rifapentine tồn tại ở dạng tinh thể màu đỏ cam. Rifabutin là bột kết tinh màu đỏ tím. Sự hiện diện của nhóm phenolic tạo nên tính acid (với $pK_a \sim 1.7$), trong khi gốc piperazine làm hoạt chất có tính base ($pK_a \sim 7.9$). Rifamycin và các dẫn chất bán tổng hợp ổn định ở trạng thái rắn nhưng không bền trong dung dịch và không bền với ẩm (nhóm ester dễ bị thủy phân).

Ở pH kiềm, với sự hiện diện của oxygen, rifampicin/rifapentin bị oxy hóa thành quinone. Trong môi trường acid, rifampicin và rifapentin bị thủy phân thành 3-formyl rifamycin SV. Tốc độ phân hủy phụ thuộc vào pH và nhiệt độ.



Hình 5.13.20. Các sản phẩm phân hủy của rifampicin/rifapentin

2.2.3. Kiểm nghiệm

Rifampicin

- Định tính:

+ Phổ IR, UV-Vis.

+ Phản ứng với ammonium persulfate (chất oxy hóa) trong đệm phosphate pH 7.4 làm chuyển màu dung dịch từ vàng cam của rifampicin sang đỏ tím của rifampicin quinone.

- *Tạp liên quan:* Kiểm tạp rifampicin quinone bằng HPLC.

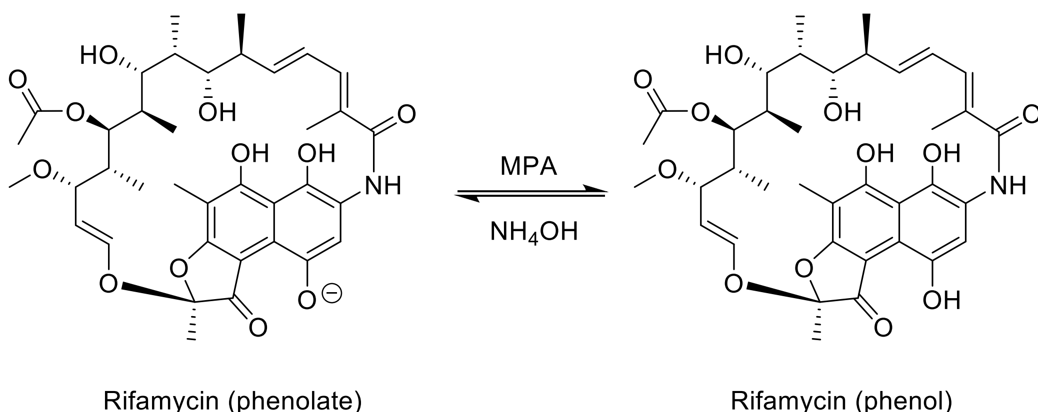
- *Định lượng:* Hòa tan chế phẩm trong methanol, pha loãng bằng đệm phosphate pH 7.4. Đo độ hấp thụ bằng phương pháp đo phổ UV-Vis bước sóng 475 nm với mẫu trắng là đệm phosphate pH 7.4 [8].

- *Bảo quản:* Trong bao bì kín có môi trường khí nitrogen, tránh ánh sáng, ở nhiệt độ không quá 25 °C.

Rifamycin natri (dạng muối natri phenolate của rifamycin SV)

- Định tính bằng IR, UV-Vis.

- Phản ứng với methoxyphenylacetic acid (MPA) thu được dung dịch màu đỏ trong suốt. Làm mát trong nước đá 30 phút, kết tủa được tạo thành (rifamycin SV dạng phenol, không tan trong nước). Đặt hỗn hợp vào nước ở 20 °C và khuấy trong 5 phút. Kết tủa không biến mất. Thêm ammonia loãng. Kết tủa tan hoàn toàn (tạo muối phenolate). Thêm dung dịch ammonium carbonate, không có kết tủa được hình thành [8].



Hình 5.13.21. Phản ứng định tính rifamycin natri

- Kiểm tạp chất liên quan: rifamycin B, rifamycin S và rifamycin O (phương pháp HPLC).

Rifabutin

- *Định tính:* Phổ IR so với phổ chuẩn.

- *Thử tinh khiết:* bằng sắc ký lỏng các tạp chất 1-(2-methylpropyl)piperidin-4-one; 3-aminorifamycin S; 3-amino-4-imidorifamycin S; 21,31-didehydrorifabutin; 16-deacetylrifabutin.

- *Định lượng:* Phương pháp HPLC.

2.2.4. Cơ chế kháng khuẩn

Các rifammycin ức chế tổng hợp RNA vi khuẩn bằng cách gắn vào tiểu đơn vị β của RNA polymerase (RNAP) và có hiệu quả rất cao trên trực khuẩn nội bào và ngoại bào đang phân chia.

Rifampicin có tác dụng ức chế *Mycobacterium tuberculosis; M. leprae; M. avium, M. boris,...* Hoạt chất có hoạt tính rất mạnh trên *Neisseria meningitidis. Staphylococcus aureus, Haemophilus influenza, Legionella pneumophila* [13]. Rifampicin kìm khuẩn hay diệt khuẩn tùy thuộc vào nồng độ và sự nhạy cảm của vi khuẩn. Rifampicin có hoạt tính trên cả ba dạng vi khuẩn lao.

Đề kháng xảy ra khi có đột biến gen chịu trách nhiệm đáp ứng trên tiểu đơn vị β của RNA polymerase (gen *rpo*B) làm kháng sinh không thể gắn kết với RNA polymerase.

2.2.5. Quan hệ cấu trúc - tác dụng [4]

Các nghiên cứu cấu trúc - tác dụng (SAR) cho thấy, để đảm bảo hoạt tính, các rifamycin cần có:

- OH tại C1, C8, C21, C23 tự do.

- Các nhóm này cần nằm trong một mặt phẳng và quan trọng để gắn vào RNAP.

Các thay thế làm mất hoạt tính:

- Sự acetyl hóa ở C21 và/hoặc C23.

- Giảm các liên kết đôi trong vòng macro.

- Vòng macro bị mở.

Thay thế ở C3 hoặc C4 tạo ra các hợp chất có hoạt tính khác nhau. Việc thay thế ở các vị trí này ảnh hưởng đến tính chất lý hóa, dược động học và sự vận chuyển qua màng tế bào vi khuẩn.

2.2.6. Dược động học

Rifampicin và rifapentine có thể hấp thu qua đường uống. Khoảng 50% liều rifabutin đường uống được hấp thu. Thức ăn có thể ảnh hưởng sự hấp thu thuốc. Rifampicin giảm hấp thu bởi thức ăn. Khả năng hấp thu rifapentine tăng lên khi uống sau bữa ăn.

Rifampicin phân bố tốt đến tất cả mô và dịch của cơ thể ngoại trừ não. Rifabutin rất thân dầu nên có ái lực cao với mô. Tỉ lệ liên kết với protein huyết tương của rifampicin từ 70% đến 80% trong khi với rifapentine là 98%, rifabutin là 85%. Con đường chuyển hóa chính của rifampicin và rifapentine là deacetyl hóa xảy ra tại C25 acetate. Sản phẩm

chuyển hóa, desacetylrifampin và desacetylrifapentine vẫn còn hoạt tính. Phần lớn hai sản phẩm desacetyl hóa đều được tìm thấy trong phân, nhưng desacetylrifampin glucuronide có thể được tìm thấy trong cả nước tiểu. 3-formylrifamycin SV như một chất chuyển hóa thứ hai sau khi dùng rifampicin và rifapentine. Sản phẩm này hình thành tại ruột từ phản ứng thủy phân xúc tác acid. Formylrifamycin có hoạt tính kháng khuẩn đặc biệt rộng. Thời gian bán thải của rifabutin, rifapentine, rifampicin lần lượt là 16 - 69 giờ, 13.2 giờ và 2 - 5 giờ. Cả ba hoạt chất và chất chuyển hóa của chúng được bài tiết qua nước tiểu, phân, nước bọt, mồ hôi và nước mắt. Vì những chất này có màu nên các dịch tiết này và da của bệnh nhân cũng có màu đỏ cam [4,13].

Sự chuyển hóa ở gan của rifabutin rất phức tạp với 20 chất chuyển hóa đã được báo cáo. Vài chất đã được xác định là 25-desacetylrifabutin, 25-desacetylrifabutin-*N* oxide, 31-hydroxyrifabutin, 32-hydroxyrifabutin và 32-hydroxy-25-desacetylrifabutin. Chất chuyển hóa thải trừ qua nước tiểu (50%) và trong phân (30%). Dựa vào hoạt tính của các rifamycin, có thể rifabutin có chất chuyển hóa có hoạt tính kháng lao.

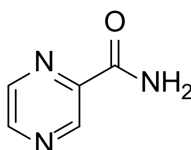
Rifaximin không hấp thu khi dùng đường uống nên được dùng để điều trị các bệnh nhiễm trùng đường ruột. Rifampicin dùng đường tiêm truyền tĩnh mạch chậm, được đóng gói ở dạng bột đông khô, được hòa tan trong dextrose 5% hoặc NaCl 0.9%. Dung dịch tiêm của rifampin ổn định trong 24 giờ ở nhiệt độ phòng.

2.2.7. Tác dụng phụ

Rifampicin có thể ảnh hưởng chức năng gan, không nên dùng cho bệnh nhân suy giảm chức năng gan, nghiện rượu hoặc kết hợp với thuốc độc gan khác. Nên thường xuyên thử chức năng gan trong khi dùng thuốc. Độc tính trên gan sẽ tăng khi dùng chung với INH.

Các rifamycin gây cảm ứng men gan mạnh, làm tăng hoạt tính của men cytochrome P450 oxygenase nên làm tăng chuyển hóa các chất chịu tác động của enzyme này, ví dụ: chất chống đông, barbiturate, benzodiazepine, thuốc hạ đường huyết, phenytoin, estrogen, methadone, corticosteroid, cyclosporine, digoxin, diltiazem,... Ngoài ra, rifampicin cũng làm tăng chuyển hoá INH ở gan.

2.3. Pyrazinamide (PZA)



Hình 5.13.22. Pyrazinamide (pyrazine-2-carboxamide)

2.3.1. Tính chất lý hóa, kiểm nghiệm

Tính chất lý hóa: Bột kết tinh trắng hay gần như trắng. Tan tương đối trong nước, rất ít tan trong ethanol và methylene chloride, có dạng đa hình.

Kiểm nghiệm

- Định tính:

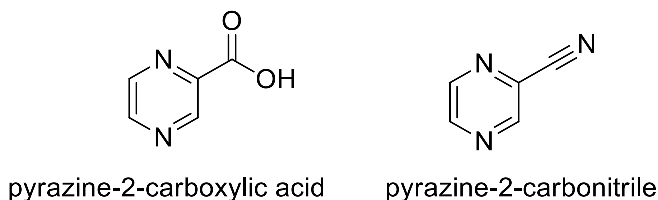
+ Đo phổ IR và so sánh với phổ chuẩn, đo điểm chảy, đo phổ UV-Vis.

+ Phản ứng hóa học: Hòa tan chế phẩm trong nước. Thêm dung dịch sắt (II) sulfate, dung dịch chuyển thành màu vàng cam. Thêm dung dịch natri hydroxyde loãng, dung dịch chuyển thành màu xanh lam đậm.

- Thử tinh khiết:

+ Màu sắc và độ trong của dung dịch, giới hạn acid kiềm, kim loại nặng.

+ Tạp chất liên quan gồm pyrazine-2-carboxylic acid và pyrazine-2-carbonitrile, là sản phẩm phụ của quá trình tổng hợp được phát hiện bằng HPLC.



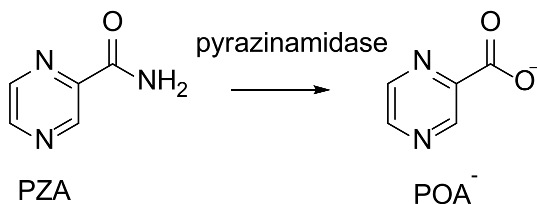
Hình 5.13.23. Các tạp liên quan của PZA

- Định lượng: chuẩn độ trong môi trường acetic anhydride, chất chuẩn độ là perchloric acid 0.1 M. Xác định điểm tương đương bằng chuẩn độ điện thế.

2.3.2. Cơ chế kháng khuẩn - Cơ chế đề kháng

Là một dẫn chất của nicotinamide, mặc dù có cấu trúc tương tự INH và ETH, nhưng pyrazinamide không ức chế enzyme InhA ở trực khuẩn lao.

Vi khuẩn nhạy cảm tiết ra pyrazinamidase (mã hóa bởi gen *pncA*), enzyme chuyển pyrazinamide thành pyrazinoate (POA^-).



Hình 5.13.24. Sự thủy phân của PZA thành POA^- bởi vi khuẩn lao

PZA chỉ có hoạt tính khi môi trường quanh vi khuẩn có pH acid. Vì chỉ trong môi trường acid, POA^- mới được proton hóa thành pyrazinoic acid không tích điện và có thể thấm vào trong tế bào vi khuẩn. Sự xâm nhập của pyrazinoic acid làm giảm pH của tế bào chất, ảnh hưởng đến hoạt động của tế bào. Điều này cũng làm giảm điện thế màng của trực khuẩn dạng không hoạt động, do đó, giảm sự vận chuyển qua màng và làm thay đổi năng lượng của màng.

Tác động diệt khuẩn của PZA chủ yếu trên vi khuẩn lao dạng không hoạt động, vì dạng này không tạo ra đủ năng lượng cung cấp cho hệ thống bơm ngược (efflux pump) đẩy POA ra khỏi tế bào. Thuốc không có hoặc có hoạt tính rất kém trên vi khuẩn lao dạng hoạt động.

Ngoài cơ chế liên quan đến pH acid, PZA còn có các đích tác dụng khác trong tế bào vi khuẩn. Chủng lao kháng thuốc do đột biến gen mã hóa pyrazinamidase (pncA) và các đích tác dụng khác của PZA trong tế bào vi khuẩn [13,14].

Khi dùng đơn độc pyrazinamide dễ dẫn đến đề kháng nên thường dùng kết hợp với thuốc khác. Ít có sự đề kháng chéo giữa pyrazinamide và isoniazid.

2.3.3. Quan hệ cấu trúc - tác dụng

Các biến đổi trong cấu trúc của pyrazinamide chưa thu được dẫn chất có hoạt tính sinh học cao hơn. Thay thế vòng pyrazine hoặc dị vòng thơm làm giảm hoạt tính.

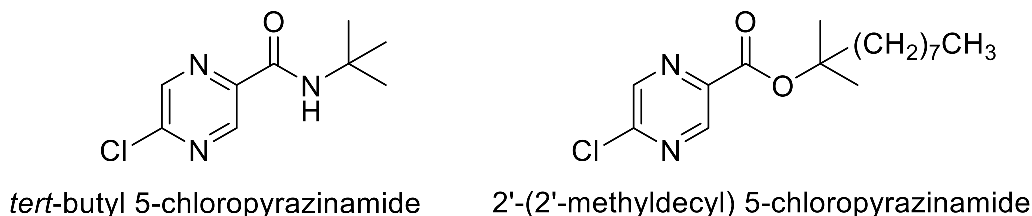
Qua mô hình SAR, các thay đổi trong cấu trúc cần cải thiện các tính chất sau [4,15]:

- Tính thân nước: để nồng độ thuốc trong huyết tương đủ phân phối đến vị trí nhiễm trùng.

- Tính thân dầu: để hoạt chất xâm nhập vào tế bào vi khuẩn.

- Tính dễ bị thủy phân: để tiền chất không bị ảnh hưởng bởi các enzyme ngoại bào nhưng dễ dàng bị thủy phân tại vị trí tác dụng.

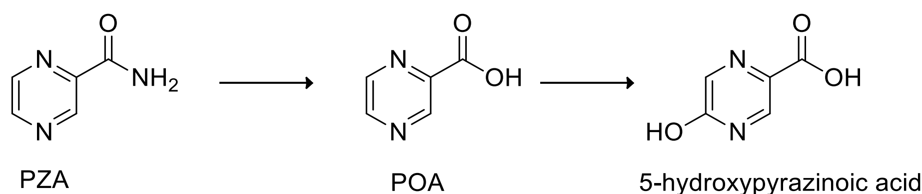
Hai hợp chất đáp ứng các tiêu chí này là *tert*-butyl 5-chloropyrazinamide và 2′-(2′-methyldecyl) 5-cloropyrazinamide.



Hình 5.13.25. Dẫn chất PZA đang được nghiên cứu

2.3.4. Dược động học

Pyrazinamide được hấp thu ngay sau khi uống và phân bố khắp cơ thể. Thuốc xâm nhập vào màng não bị viêm, do đó, được khuyến cáo dùng cho bệnh nhân viêm màng não do lao. Thời gian bán thải từ 12 - 24 giờ nên có thể dùng thuốc một lần/ngày. Có một lượng nhỏ được bài tiết ở dạng không đổi. Hoạt chất được thủy phân bởi pyrazinamidase ở gan thành pyrazinoic acid- chất chuyển hóa có hoạt tính - tiếp theo là bị oxy hóa bởi xanthine oxidase thành 5-hydroxy pyrazinoic acid xuất hiện ở dạng tự do hoặc liên hợp với glycine.



Hình 5.13.26. Sự chuyển hóa của PZA

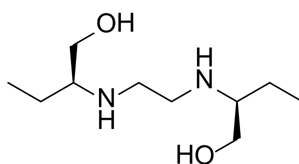
Pyrazinamide là thành phần chính trong phác đồ điều trị lao. Gần đây, hoạt chất này đã được nâng lên hàng đầu tay trong phác đồ điều trị lao ngắn hạn vì hoạt tính diệt khuẩn và tương đối ít độc khi dùng thời gian ngắn. Pyrazinamide có hiệu quả tối đa ở môi trường pH 5.5 trong đại thực bào nhưng gần như bất hoạt trong môi trường trung tính. Sự phối hợp của pyrazinamide giúp rút ngắn thời gian điều trị từ 9 tháng xuống còn 6 tháng.

Hoạt chất này cũng có khả năng kháng lại dạng bán hoạt động của trực khuẩn lao. Tuy nhiên, pyrazinamide không có hoạt tính chống trực khuẩn lao dạng không hoạt động nên không thích hợp để điều trị lâu dài.

2.3.5. Tác dụng phụ

Cần thận trọng khi dùng trên bệnh nhân tăng uric acid máu hoặc gout vì pyrazinamide có ảnh hưởng đến quá trình bài tiết uric acid. Pyrazinamide cũng có thể gây độc gan khi dùng thuốc lâu dài.

2.4. Ethambutol (EMB)



Hình 5.13.27. Ethambutol

(2*S*)-2-[2-[[(2*S*)-1-hydroxybutan-2-yl]amino]ethylamino]butan-1-ol

2.4.1. Tính chất lý hóa, kiểm nghiệm

Tính chất

Dạng dùng của ethambutol là dạng muối dihydrochloride.

- Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, hút ẩm. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96%.

- Nhiệt độ nóng chảy của dạng muối là 202 °C và dạng base từ 87.5 °C đến 88.5 °C.

- pK_{a1} = 6.6; pK_{a2} = 9.5.

- Năng suất quay cực trong nước là +7.6°.

Kiểm nghiệm

- Định tính:

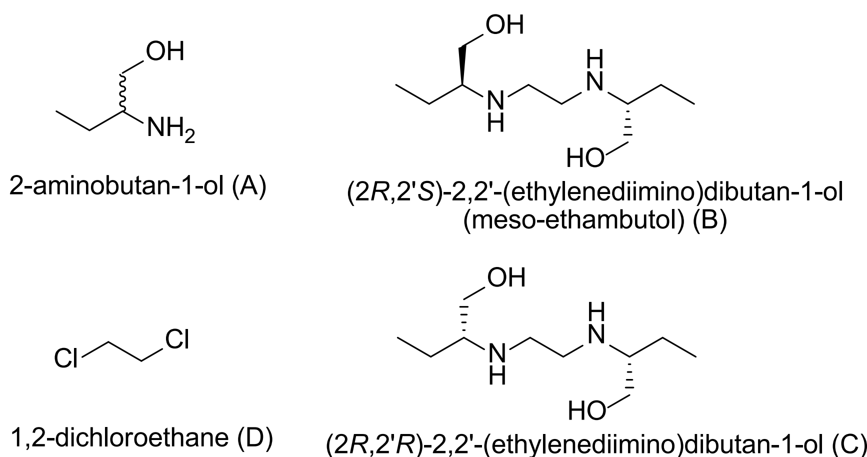
+ Phổ hồng ngoại, sắc ký lớp mỏng.

+ Phản ứng với đồng sulfate trong NaOH tạo phức đồng màu xanh [7].

Phản ứng này đặc trưng cho hợp chất có nhóm 1,2-aminoalcol hoặc 1,2-diamine. Phức đồng cho cực đại hấp thu tại bước sóng 265 nm và 610 nm thích hợp để định lượng bằng phương pháp đo quang.

+ Dạng muối: phản ứng của ion chloride.

- *Thử tinh khiết:* Phát hiện sự hiện diện chất trung gian trong quá trình tổng hợp (tạp A) bằng sắc ký lớp mỏng hoặc HPLC. Ngoài ra, còn có tạp B, C và D [8].



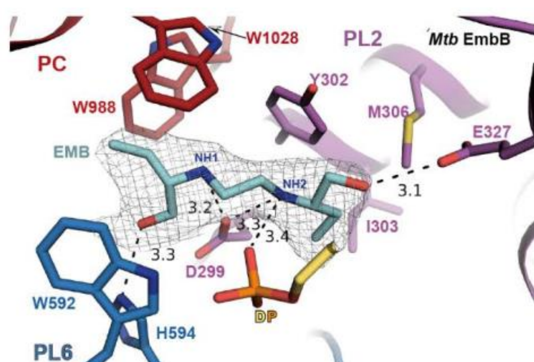
Hình 5.13.28. Các tạp liên quan của ethambutol

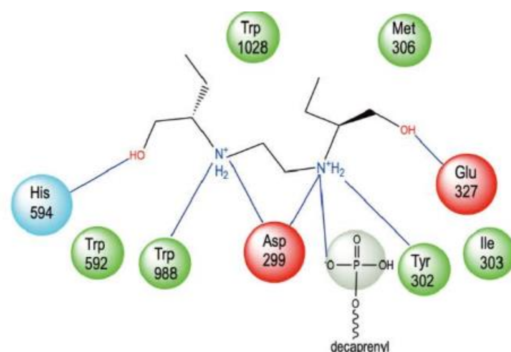
- *Định lượng:* Chuẩn độ acid - base với dung dịch chuẩn độ NaOH 0.1 M.

2.4.2. Cơ chế tác dụng

Ethambutol chỉ tác động trên vi khuẩn đang phân chia, không tác dụng với các dạng khác. Hoạt chất chủ yếu có khả năng kìm khuẩn, ở liều cao có thể diệt khuẩn. Ethambutol ức chế trực khuẩn lao do ức chế quá trình tổng hợp một bộ phận quan trọng và đặc biệt cấu tạo nên thành tế bào vi khuẩn lao, đó là mycolyl-arabinogalactan-peptidoglycan (MAGP) và lipoarabinomannan (LAM). Cả hai cấu trúc đại phân tử này đều có một phần polysaccharide, được gọi là arabinan.

Trong chuỗi phản ứng sinh hóa tổng hợp nên chuỗi arabinan có sự tham gia của các arabinosyltransferase - EmbA, EmbB và EmbC. Các enzyme này có vai trò gắn một phân tử arabinose lên chuỗi arabinan đang hình thành. Ethambutol ức chế EmbB và EmbC bằng cách cạnh tranh với cơ chất gắn vào vị trí xúc tác của hai enzyme này [16].





Hình 5.13.29. Vị trí gắn kết của ethambutol với EmbB của vi khuẩn lao [13]

Không có đề kháng chéo giữa ethambutol và các thuốc kháng lao khác. Ethambutol có tác dụng hiệp đồng với INH.

2.4.3. Quan hệ cấu trúc - tác dụng

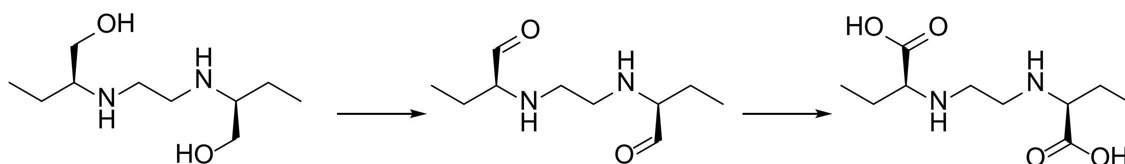
Ethambutol là một ethylenediiminobutanol, được dùng ở dạng hữu triền với hoạt tính mạnh hơn dạng tả triền từ 200 - 500 lần. Sự khác nhau về hoạt tính giữa hai đồng phân chứng tỏ tính đặc hiệu về vị trí tác động trên thụ thể.

Chiều dài của chuỗi ethylene diamine, sự phân nhánh của nhóm thế alkyl trên nitrogen và mức độ *N*-alkyl hóa có ảnh hưởng rõ rệt đến hoạt tính.

Nhiều dẫn chất đã được nghiên cứu nhưng chưa có chất nào có hoạt tính mạnh như ethambutol. Kéo dài chuỗi ethylene diamine, thay thế nitrogen, tăng kích thước của các nhóm thế trên nitrogen và di chuyển vị trí của các nhóm ethanol đều làm giảm đáng kể hoặc mất hoạt tính [4,13].

2.4.4. Dược động học

Ethambutol được hấp thu nhanh chóng sau khi uống với sinh khả dụng từ 75-80%. Nồng độ đỉnh trong huyết thanh đạt được sau khoảng 2 giờ. Hoạt chất được bài tiết nhanh chóng, chủ yếu qua nước tiểu. Có đến 80% hoạt chất được bài tiết ở dạng hoạt tính, khoảng 20% hoạt chất được chuyển hóa qua gan và xuất hiện trong nước tiểu dưới dạng chất không còn hoạt tính. Thời gian bán thải 2.5 - 3.6 giờ.



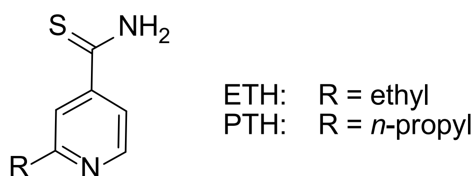
Hình 5.13.30. Sơ đồ quá trình chuyển hóa của ethambutol

2.4.5. Tác dụng phụ

Thuốc có ít tác dụng phụ, có thể gây đau đầu, đau khớp, đau bụng. Có thể gây ra gout cấp tính hoặc tăng uric acid. Tác dụng phụ nghiêm trọng nhất là trên thần kinh thị giác. Có thể gây mù màu, hoặc giảm thị lực. Không dùng cho người viêm dây thần kinh thị giác.

Tương tác với các thuốc chứa nhôm như thuốc kháng acid dạ dày do làm giảm độ hấp thu ethambutol.

2.5. Ethionamide (ETH) và prothionamide (PTH)



Hình 5.13.31. ETH và PTH

PTH là thuốc tương đồng với ETH (2-ethylpyridine-4-carbothioamide), có nhóm ethyl được thay bằng nhóm *n*-propyl. PTH có cơ chế tác dụng và hiệu quả tương tự ETH, nhưng dường như được dung nạp tốt hơn và ít tác dụng phụ hơn ETH [17].

2.5.1. Tính chất lý hóa, kiểm nghiệm

Tính chất lý hóa: Bột kết tinh màu vàng hoặc tinh thể mịn màu vàng. Thực tế không tan trong nước, tan trong methanol, tan từng phần trong ethanol 96%.

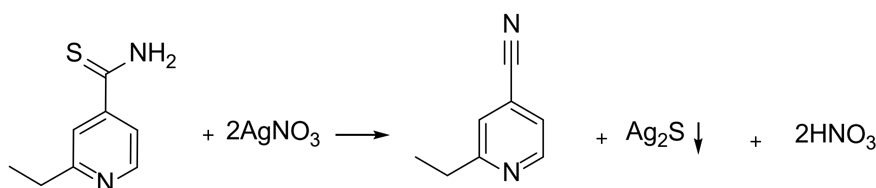
Kiểm nghiệm

- Định tính:

+ Phổ IR so với phổ chuẩn, điểm chảy, phổ UV-Vis.

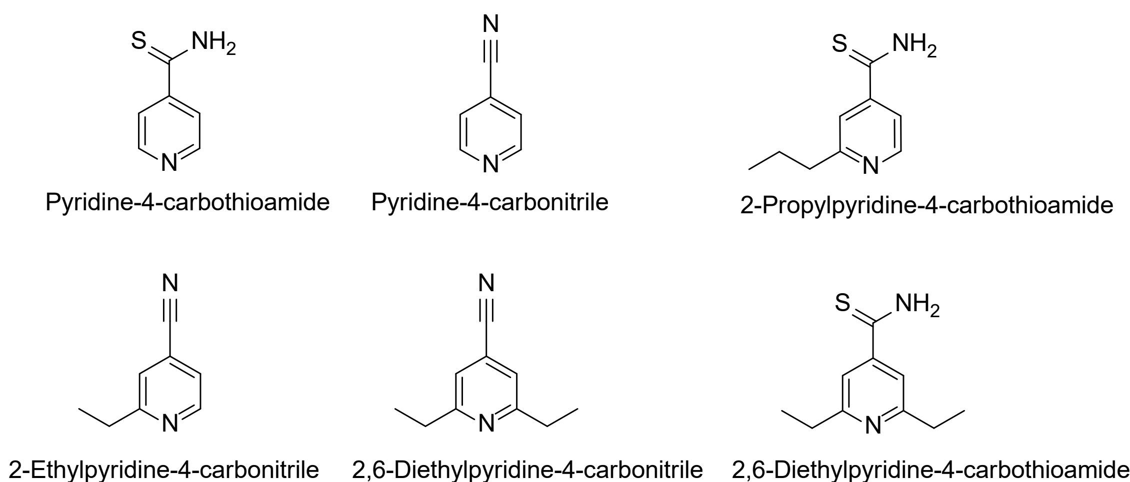
+ Đun nóng với natri carbonate, nhóm thionamide bị loại giải phóng 2-ethylpyridine có thể nhận biết vì mùi đặc trưng.

+ Phản ứng với bạc nitrate loại bỏ lưu huỳnh ra khỏi phân tử đồng thời bạc sulfide (Ag_2S, tủa nâu) và 2-ethyl-4-cyanopyridine được tạo thành. Acid được tạo ra có thể được định lượng bằng một hydroxide kiềm.



Hình 5.13.32. Phản ứng của ETH với bạc nitrate

- *Tạp chất liên quan:* Tạp quan trọng nhất của ETH là pyridine-4-carbothioamide được phát hiện bằng HPLC. Ngoài ra, còn có tạp pyridine-4-carbonitrile; prothionamide; 2-ethylpyridine-4-carbonitrile; 2,6-diethylpyridine-4-carbothioamide; 2,6-diethylpyridine-4-carbonitrile [8].

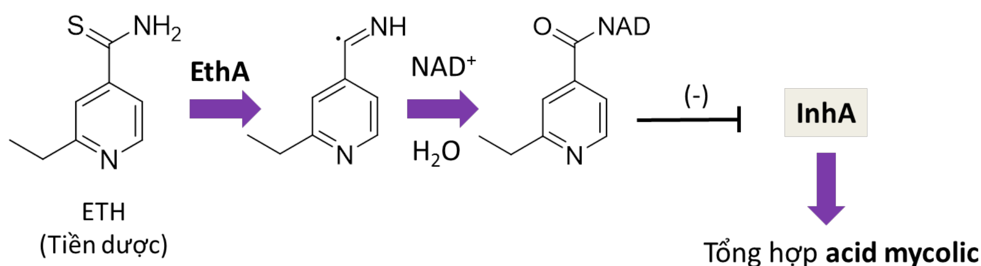


Hình 5.13.33. Các tạp liên quan của ETH

- *Định lượng:* Chuẩn độ trong môi trường khan, chất chuẩn độ là perchloride acid, phát hiện điểm kết thúc chuẩn độ bằng phép đo thế.

2.5.2. Cơ chế kháng khuẩn

ETH được phát hiện qua quá trình tổng hợp các chất tương tự isonicotinamide. Thuốc có cơ chế tác dụng tương tự INH, đó là ức chế tổng hợp mycolic acid của trực khuẩn lao. ETH cũng là một tiền dược, phải được hoạt hóa bởi enzyme monooxygenase EthA của vi khuẩn lao để trở thành chất cộng hợp ETH-NAD, chất này ức chế InhA tương tự như INH-NAD. Tác dụng kìm khuẩn hay diệt khuẩn tùy thuộc vào nồng độ.

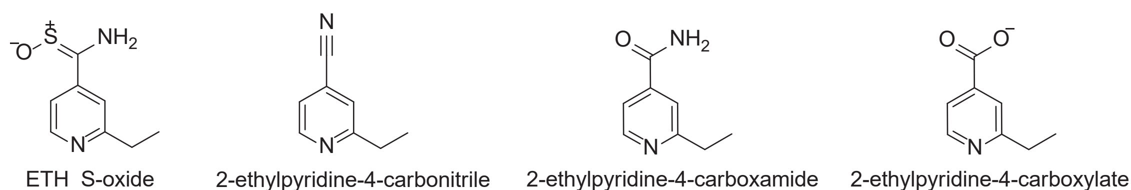


Hình 5.13.34. Cơ chế tác dụng của ETH

Tuy cùng có chung đích tác dụng với INH nhưng vi khuẩn lao có độ nhạy cảm kém hơn ETH. Nguyên nhân là enzyme EthA bị điều hòa bởi repressor EthR, làm cho mức độ hoạt hóa ETH bị giới hạn [18].

2.5.3. Dược động học

ETH hấp thu nhanh và hoàn toàn sau khi uống. Sự dung nạp kém khi liều dùng > 500 mg. Có thể giảm kích ứng đường tiêu hóa bằng cách uống trong bữa ăn. Thuốc phân bố khắp cơ thể. Phần lớn thuốc chuyển hóa qua gan thành dạng có hoạt tính, ETH S-oxide, và các dạng không có hoạt tính: carbonitrile, carboxamide, carboxylate. Có dưới 1% thuốc nguyên thủy được bài tiết, phần còn lại đào thải dưới dạng chất chuyển hóa qua thận [19].



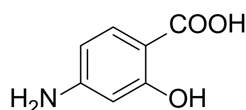
Hình 5.13.35. Các chất chuyển hóa của ETH

2.5.4. Tác dụng phụ

Rối loạn tiêu hóa là tác dụng phụ thường gặp nhất. Tiếp đến là rối loạn thị giác và nhiễm độc gan. Ngoài ra, còn có viêm dạ dày, trầm uất, bồn chồn, hoa mắt, sút cân, tăng mẫn cảm với ánh sáng, xuất huyết, phát ban,... Tăng tác dụng phụ trên hệ thần kinh của cycloserine và isoniazid.

Trước khi sử dụng cần đánh giá chức năng gan. Không dùng cho người bị suy gan nặng. Dùng thận trọng cho bệnh nhân đái tháo đường, bệnh tuyến giáp.

2.6. *Para*-aminosalicylic acid (PAS)



Hình 5.13.36. *Para*-aminosalicylic acid
(Tên IUPAC: 4-amino-2-hydroxybenzoic acid)

2.6.1. Tính chất lý hóa

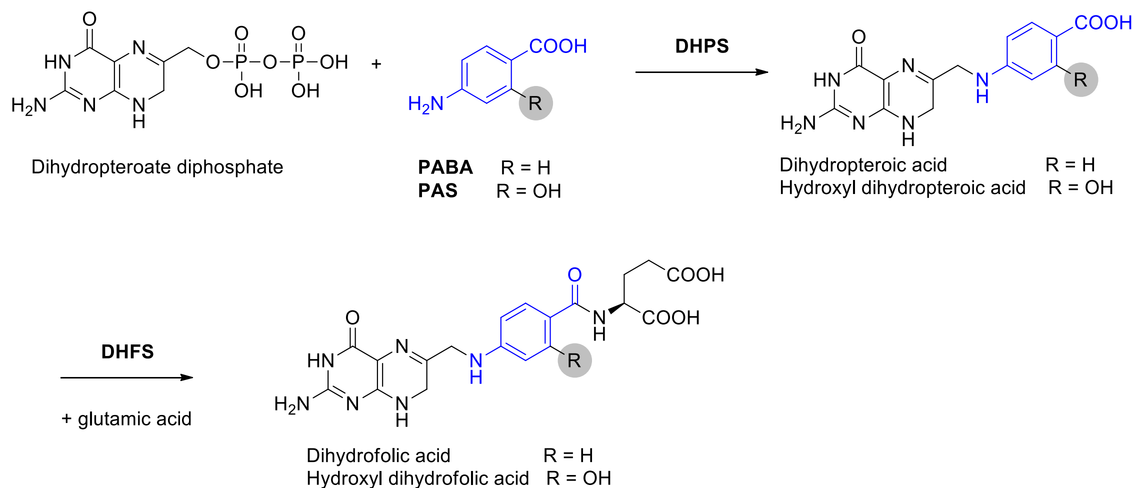
Bột trắng hoặc gần như trắng chuyển màu sậm khi tiếp xúc với ánh sáng và không khí. Ít tan trong nước và ether, tan trong cồn 96%, thực tế không tan trong benzene.

Các muối của kim loại kiềm và muối của nitric acid đều tan trong nước nhưng muối của hydrochloric acid và sulfuric acid không tan. Dung dịch nước có pH khoảng 3.2. Dung dịch muối natri hòa tan và ổn định nhất ở pH từ 7.0 - 7.5.

Trong dung dịch, có hai quá trình xảy ra, đó là khử carbon (xảy ra ở pH thấp) và oxy hóa (xảy ra ở pH cao), do đó, dung dịch phải được dùng trong vòng 24 giờ sau khi pha.

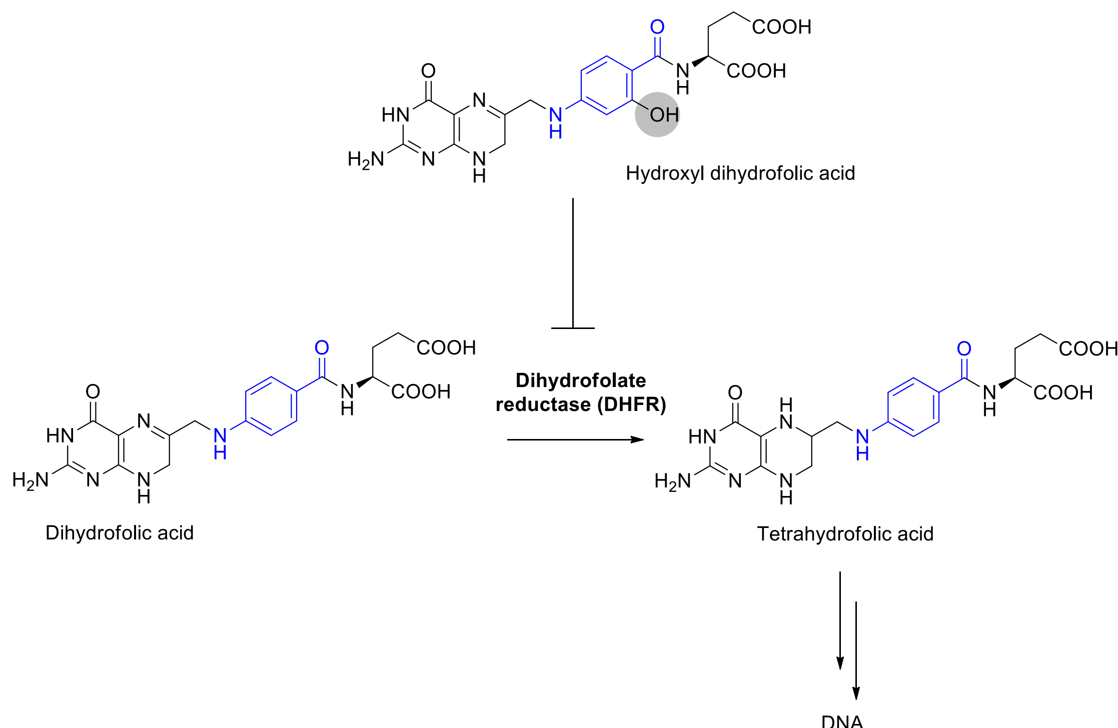
2.6.2. Cơ chế kháng khuẩn

Do có cấu trúc gần giống với *p*-aminobenzoic acid (PABA), PAS là chất chống chuyển hóa, can thiệp quá trình tổng hợp folic acid từ PABA. Các enzyme dihydropteroate synthase (DHPS) và dihydrofolate synthase (DHFS) có thể dùng PAS thay vì PABA làm cơ chất và lần lượt chuyển hóa PAS thành hydroxyl dihydrofolic acid.



Hình 5.13.37. Cơ chế hoạt hóa PAS bởi DHPS và DHFS

Hydroxyl dihydrofolic acid ức chế dihydrofolate reductase (DHFR)-enzyme khử dihydrofolic acid thành tetrahydrofolic acid. Hậu quả là vi khuẩn lao bị thiếu hụt tetrahydrofolic acid cần thiết cho tổng hợp DNA [20].



Hình 5.13.38. DHFR - đích tác động của PAS

PAS có hoạt tính kìm khuẩn và rất đặc hiệu trên trực khuẩn lao. Hoạt tính của hoạt chất này yếu hơn so với các thuốc kháng lao khác. Sự đề kháng xảy ra nhanh chóng nếu dùng PAS đơn độc. Thuốc ngăn chặn sự khởi đầu đề kháng của vi khuẩn đối với streptomycin và INH. Khi phối hợp với INH, PAS làm giảm sự acetyl hóa của INH, do đó làm tăng nồng độ INH trong huyết tương. Điều này có thể có lợi cho những bệnh nhân có sự acetyl hóa nhanh.

2.6.3. Liên quan cấu trúc - tác dụng

Nhóm amino và carboxyl phải ở vị trí *para* của nhau và tự do, do đó, các tiền chất ester hoặc amide phải được thủy phân *in vivo* mới có hoạt tính.

Nhóm hydroxyl có thể ở vị trí *ortho* hoặc *meta* với nhóm carboxyl.

2.6.4. Dược động học

PAS được hấp thu nhanh qua đường uống và gần như hoàn toàn. Thời gian đạt nồng độ đỉnh trong huyết tương là khoảng 1 - 4 giờ. Phân bố rộng rãi đến các mô và dịch cơ

thể, ngoại trừ dịch não tủy. Thấm vào dịch não tủy khi màng não bị viêm. Khoảng 15% của dạng muối và 50 - 60% dạng acid gắn kết với protein huyết tương. Chuyển hóa chủ yếu tại gan do quá trình acetyl hóa. Đào thải nhanh chóng qua thận, với khoảng 80% liều dùng được bài tiết qua nước tiểu trong vòng 24 giờ; khoảng 50% liều dùng được đào thải qua thận ở dạng acetyl hóa. Thời gian bán thải của PAS khoảng 1 giờ.

Dùng phối hợp với thuốc khác để điều trị lao, nhất là trường hợp lao đa đề kháng hoặc không dung nạp với hoạt chất khác. Trong nhiều năm, PAS được coi là thuốc đầu tay để điều trị bệnh lao và thường được sử dụng trong các phác đồ kết hợp với isoniazid và streptomycin. Tuy nhiên, PAS đã trở thành thuốc thay thế do sự ra đời của các tác nhân hiệu quả hơn và dung nạp tốt hơn như ethambutol và rifampicin.

2.6.5. Tác dụng phụ

Có thể gây tác dụng phụ của salicylate.

Thường gặp nhất là tác dụng phụ đường tiêu hóa, bao gồm đau thượng vị, nôn mửa, tiêu chảy làm giảm việc tuân thủ điều trị. Tác dụng phụ này gặp cả ở dạng acid và muối natri. Phản ứng tăng cảm xảy ra với khoảng 5 - 10% bệnh nhân, thường sau vài tuần điều trị, bao gồm sốt và nổi mẩn, đau khớp, hạch bạch huyết.

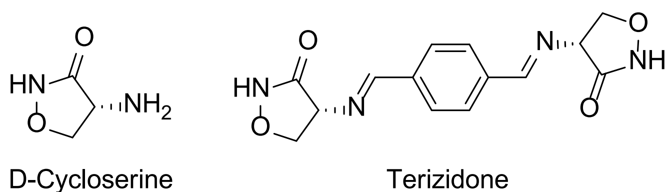
Rối loạn huyết học dễ xảy ra đối với bệnh nhân thiếu G6PD.

Ngoài ra, thuốc có thể gây sỏi niệu (giảm nguy cơ bằng cách duy trì pH nước tiểu trong khoảng trung tính hoặc kiềm).

2.6.6. Dạng dùng

PAS được dùng bằng đường uống dưới dạng viên nén hoặc viên nang chứa muối natri. Các dạng bao tan trong ruột đã được sử dụng để khắc phục tác dụng phụ trên dạ dày. Các dạng khác cải thiện khả năng dung nạp đường tiêu hóa như muối calci, ester phenyl và kết hợp nhựa trao đổi ion.

2.7. D-Cycloserine (DCS) và terizidone



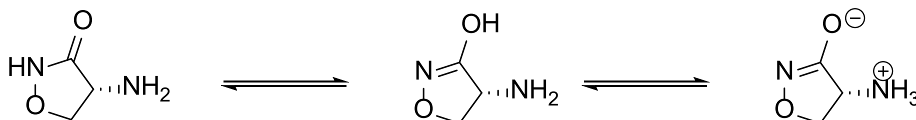
Hình 5.13.39. D-Cycloserine và terizidone

D-Cycloserine ((4*R*)-4-amino-1,2-oxazolidin-3-one) là hợp chất tự nhiên được sản xuất bởi *Streptomyces garyphalus* và *S. lavendulae*. D-cycloserine có thể được tổng hợp hóa học.

Terizidone được cấu thành bởi hai phân tử cycloserine nối với nhau nhờ phản ứng với terephthalaldehyde. Terizidone thủy phân *in vivo* giải phóng cycloserine.

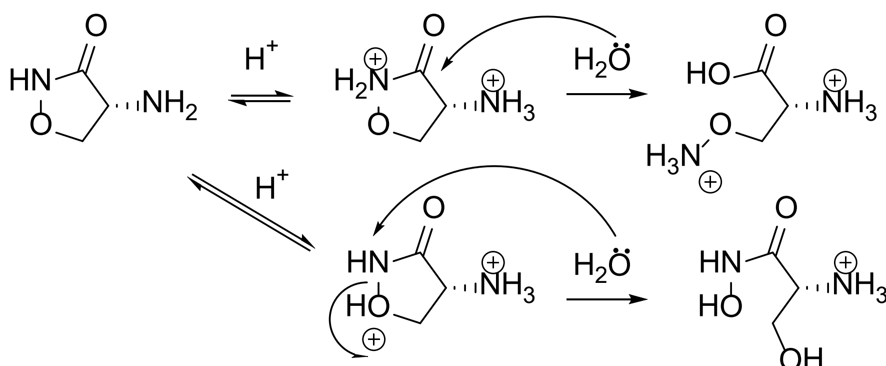
2.7.1. Tính chất lý hóa

Bột tan trong nước, tan nhẹ trong methanol hoặc propylene glycol. Cycloserine dạng hỗ biến có tính lưỡng tính (tạo muối với acid và base).



Hình 5.13.40. Dạng hỗ biến của DCS

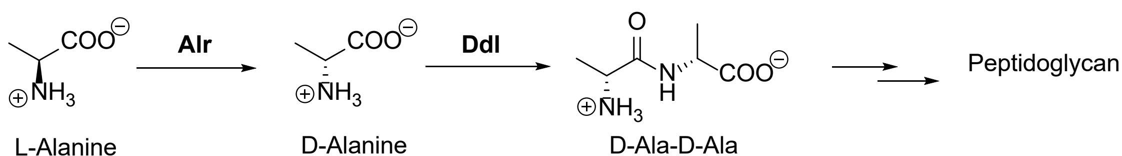
DCS bền trong kiềm nhưng không bền và bị thủy phân trong dung dịch trung tính hoặc có tính acid [21].



Hình 5.13.41. Cơ chế phản ứng thủy phân D-cycloserine trong môi trường acid

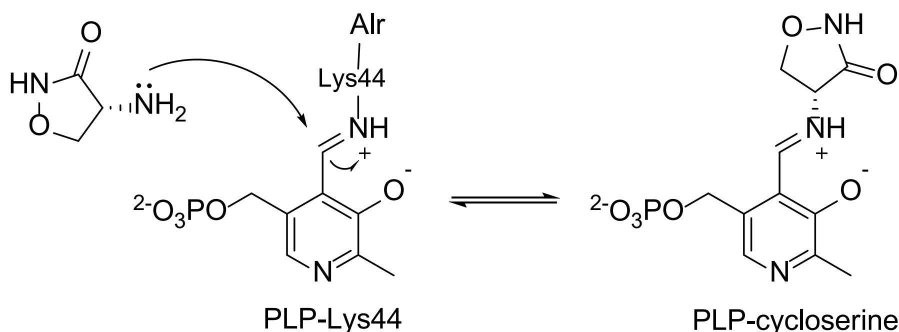
2.7.2. Cơ chế kháng khuẩn

D-Alanine (D-Ala) là một thành phần của phần peptidoglycan của thành tế bào vi khuẩn. Vi khuẩn có khả năng chuyển đổi L-Ala tự nhiên thành D-Ala nhờ enzyme D-alanine racemase (Alr). D-Ala tạo thành được ghép đôi tạo thành D-Ala-D-Ala dưới xúc tác của D-alanine ligase (Ddl) và dipeptide này được kết hợp vào peptidoglycan của thành tế bào vi khuẩn.



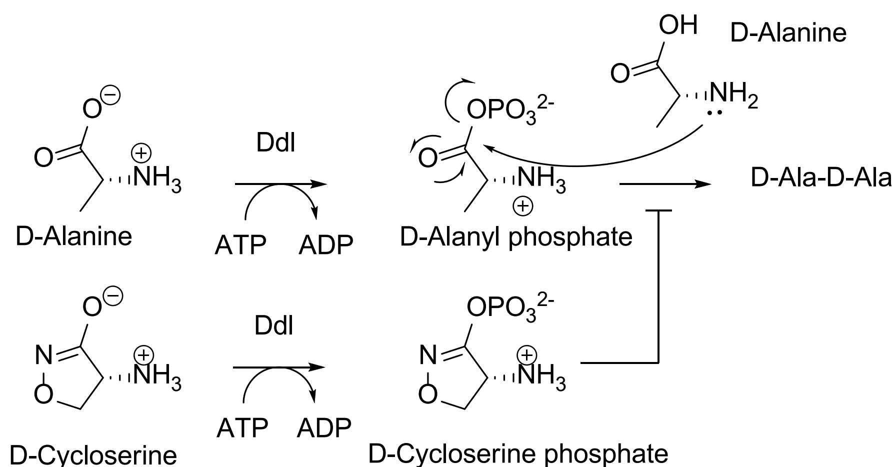
Hình 5.13.42. Vai trò của hai enzyme Alr và Ddl trong quá trình tổng hợp peptidoglycan

- Alr có cofactor là pyridoxal 5′-phosphate (PLP). Nghiên cứu cho thấy nhóm NH_2 của D-cycloserine tạo imine với PLP làm bất hoạt khả năng xúc tác của cofactor [22].



Hình 5.13.43. Phản ứng của D-cycloserine với cofactor PLP của Alr

- Ddl chuyển một nhóm phosphate của ATP sang D-Ala, tạo thành D-alanyl-phosphate. Phân tử D-Ala thứ hai phản ứng với D-alanyl phosphate để tạo dipeptide D-Ala-D-Ala. Do có cấu trúc tương đồng, DCS có thể cạnh tranh với D-Ala phản ứng với ATP, tạo thành D-cycloserine phosphate, ngăn phản ứng tạo dipeptide xảy ra [23].



Hình 5.13.44. Cơ chế ức chế Ddl của D-cycloserine

2.7.3. Cơ chế đề kháng

Hiện tượng kháng thuốc tự nhiên và mắc phải đối với DCS của *M. tuberculosis* đã được ghi nhận. Sự đề kháng DCS có liên quan đến việc biểu hiện quá mức của Alr. Trực khuẩn lao lúc đầu nhạy cảm với thuốc nhưng sẽ kháng thuốc rất nhanh khi sử dụng đơn độc DCS trong điều trị.

Chưa có sự kháng chéo giữa DCS và các thuốc chống lao khác.

2.7.4. Dược động học

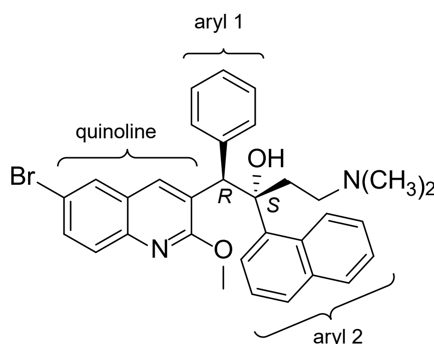
D-Cycloserine được hấp thu nhanh chóng và gần như hoàn toàn qua đường uống. Nồng độ đỉnh trong huyết tương đạt được sau 3 - 4 giờ. Thuốc phân bố đến tất cả các mô và dịch cơ thể, bao gồm dịch não tủy. Thuốc được bài tiết lượng lớn dưới dạng không đổi qua lọc cầu thận. Khoảng 50% liều đơn 250 mg được bài tiết nhanh chóng dưới dạng không đổi trong vòng 12 giờ và khoảng 72% trong vòng 72 giờ.

2.7.5. Tác dụng phụ

D-cycloserine liên kết với thụ thể thần kinh *N*-methyl aspartic acid (NMDA), ảnh hưởng đến sự tổng hợp và chuyển hóa γ-aminobutyric acid, gây ra các tác dụng phụ trên hệ thần kinh trung ương. Thuốc có cửa sổ trị liệu hẹp, do đó, cần theo dõi nồng độ thuốc trong huyết tương và duy trì nồng độ huyết tương dưới 30 μg/mL.

Dùng chung với rượu, tăng nguy cơ co giật do làm tăng nồng độ ethanol trong máu.

2.8. Bedaquiline (BDQ)



Hình 5.13.45. Bedaquiline

Tên IUPAC: (1*R*,2*S*)-1-(6-bromo-2-methoxyquinolin-3-yl)-4-(dimethylamino)-2-naphthalen-1-yl-1-phenylbutan-2-ol.

2.8.1. Tính chất lý hóa

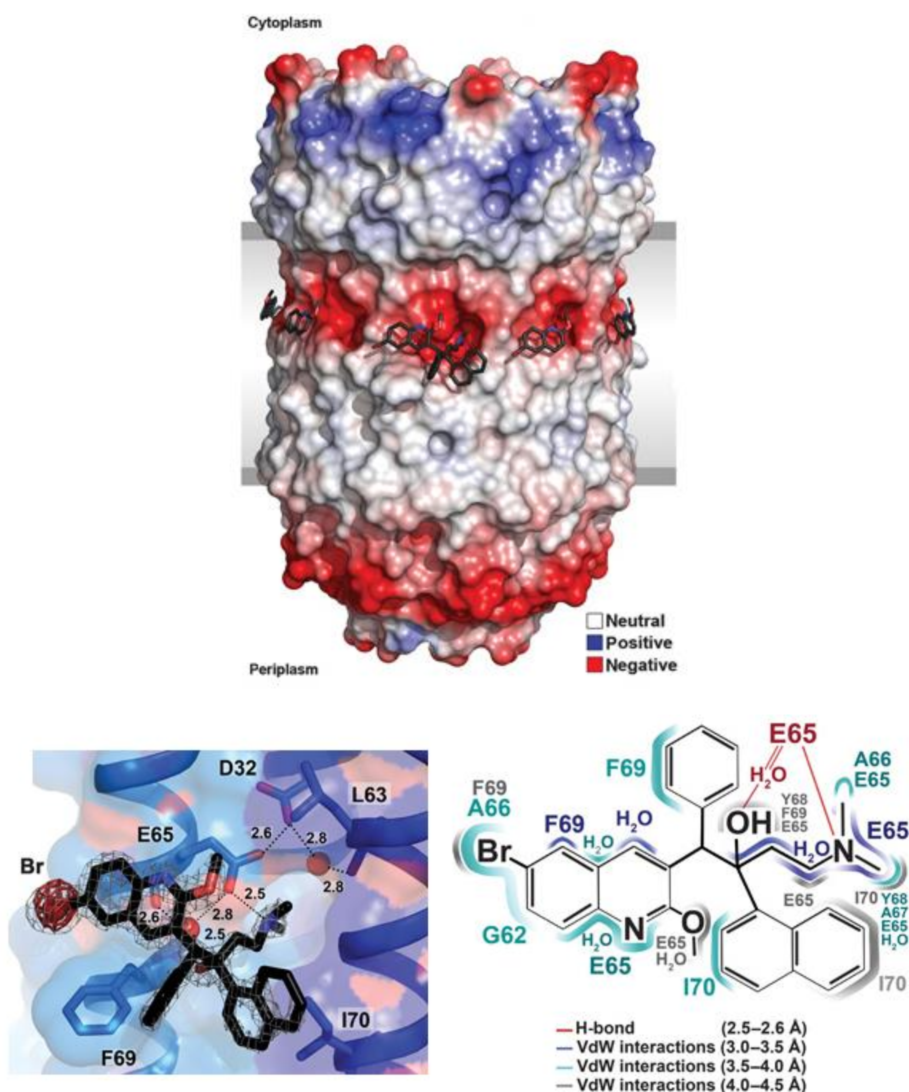
Bột trắng, nóng chảy ở 118 °C, rất thân dầu (clogP 7.25), không tan trong nước, góc quay cực -166.98° ở 20 °C, pK_{a1} = 1.57 (imine); pK_{a2} = 8.91 (amine); pK_{a3} = 13.91 (hydroxyl). Bedaquiline có cấu trúc diarylquinoline được dùng ở dạng muối fumarate.

2.8.2. Cơ chế tác dụng

Lần đầu tiên sau hơn 40 năm, bedaquiline - một hoạt chất kháng lao với cơ chế tác dụng mới được cấp phép lưu hành (từ năm 2012). Thuốc được dùng trong điều trị lao đa đề kháng.

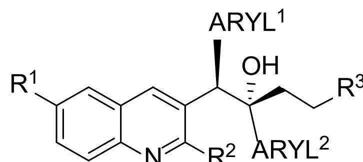
Tác dụng diệt khuẩn của BDQ do sự ức chế enzyme **ATP synthase,** enzyme chịu trách nhiệm tổng hợp ATP (adenosine 5′-triphosphate) của vi khuẩn lao. BDQ có tác dụng trên vi khuẩn lao đang hoạt động cũng như vi khuẩn dạng không hoạt động.

Cấu trúc tinh thể đồng kết tinh của BDQ với tiểu đơn vị c của ATP synthase cho thấy BDQ gắn với vị trí transmembrane rất thân dầu của tiểu đơn vị c (vị trí vốn được bao bọc bởi lớp lipid của màng tế bào). Vì vậy thuốc phải có tính thân dầu cao vì phần lớn phân tử tham gia liên kết Van der Waals (VdW) ở vị trí gắn kết. Đặc biệt, nhóm $(CH_3)_2NH^+$ và nhóm -OH tham gia liên kết tĩnh điện/liên kết hydro với nhóm carboxylate của glutamic acid (E65). Đơn vị E65 là amino acid rất quan trọng vì có nhiệm vụ gắn với proton và tạo ra thế năng tổng hợp ATP [24].



Hình 5.13.46. Cấu trúc tinh thể đồng kết tinh của BDQ với tiểu đơn vị c của ATP synthase [24]

2.8.3. Quan hệ cấu trúc tác động [25-27]



Hình 5.13.47. Cấu trúc chung của diarylquinoline

Các nghiên cứu SAR, QSAR các hợp chất có cấu trúc diarylquinoline và phân tích cấu trúc tinh thể đồng kết tinh cho thấy:

- Đồng phân 1*R*,2*S* có hoạt tính mạnh nhất.

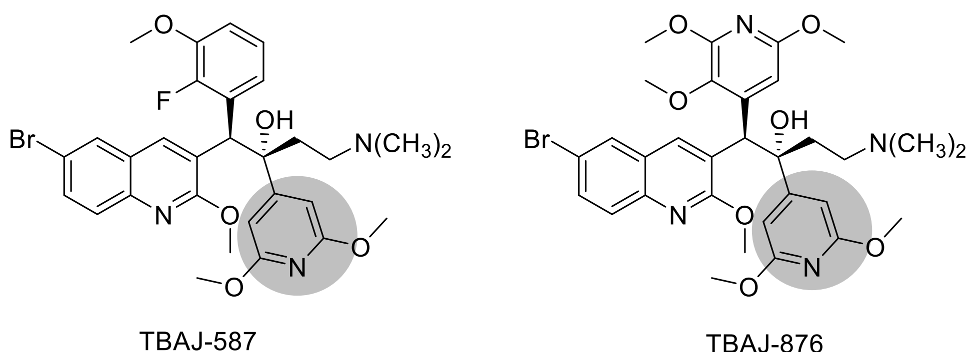
- Do bản chất thân dầu của đích gắn, hoạt tính tỷ lê thuận với tính thân dầu của phân tử. Các nỗ lực tìm kiếm các chất có hiệu lực tương tự hoặc cải thiện hoạt tính nhưng ít thân dầu hơn đã và đang được nghiên cứu.

- Nhóm hydroxyl và R^3 là nhóm dimethylamino là cần thiết để tạo liên kết hydro với tiểu đơn vị c của ATP synthase. Khoảng cách giữa hai nhóm này càng xa thì hoạt tính càng giảm.

- Nhóm R^1 là các nhóm kỵ nước (halogen, alkyl, cyano,…) giúp tạo liên kết kỵ nước (hydrophobic) với đơn vị Phe221 của tiểu đơn vị a. R^1 = Br cho hoạt tính cao nhất.

- Nhóm R^2 là OCH_3 hoặc SCH_3 cho hoạt tính mạnh nhất.

- Vòng thơm $ARYL^1$ (phenyl) và $ARYL^2$ (naphthyl) còn nhiều khả năng tối ưu hóa và gắn các nhóm thế khác nhau. Các dẫn xuất có $ARYL^2$ là 3,5-dimethoxypyridyl, ví dụ như hai hợp chất TBAJ-587 và TBAJ-876, ít thân dầu hơn và ít độc tính trên tim hơn BDQ, cho thấy tiềm năng phát triển thành thuốc.



Hình 5.13.48. Hai dẫn chất mới của BDQ đang được nghiên cứu [28,29]

2.8.4. Dược động học

Dược động học của BDQ phản ánh tính thân dầu cao: sinh khả dụng tăng gấp đôi khi dùng chung với bữa ăn tiêu chuẩn, nồng độ đỉnh đạt được sau 5 giờ; thời gian bán thải khoảng 5.5 tháng; đào thải qua chủ yếu qua phân.

Chuyển hóa bởi CYP3A4 tạo thành chất chuyển hóa *N*-monodesmethyl có hoạt tính yếu hơn 4 - 6 lần.

Dùng phối hợp điều trị MDR-TB. Chỉ dùng phối hợp với tối thiểu 3 loại thuốc khác mà chủng vi khuẩn đa kháng còn nhạy cảm *in vitro*.

2.8.5. Tác dụng phụ, độc tính - tương tác thuốc

Thường gặp là nôn mửa, đau đầu, đau ngực, nổi mẩn.

BDQ ức chế kênh hERG nên gây kéo dài khoảng QT, gây loạn nhịp tim, xoắn đỉnh. Khi sử dụng thuốc cần theo dõi điện tâm đồ và tránh các thuốc cũng gây kéo dài khoảng QT.

Các độc tính trên gan cũng đã được báo cáo.

BDQ được chuyển hóa bởi CYP3A4 nên cần tránh sử dụng các thuốc hoạt hóa/ức chế CYP3A4. Chú ý các thuốc kháng lao nhóm rifamycin gây hoạt hóa CYP3A4 nên không được phối hợp với BDQ.

2.9. Fluoroquinolone (xem bài “Kháng sinh họ quinolone”)

Hai hoạt chất thuộc nhóm kháng sinh quinolone được WHO khuyến cáo dùng điều trị lao là levofloxacin và moxifloxacin.

2.10. Aminoglycoside (xem bài “Kháng sinh họ aminoglycoside”)

Hai hoạt chất thuộc nhóm kháng sinh aminoglycoside được WHO khuyến cáo dùng điều trị lao là streptomycin và amikacin.

2.11. Clofazimine (xem bài “Thuốc kháng phong”)

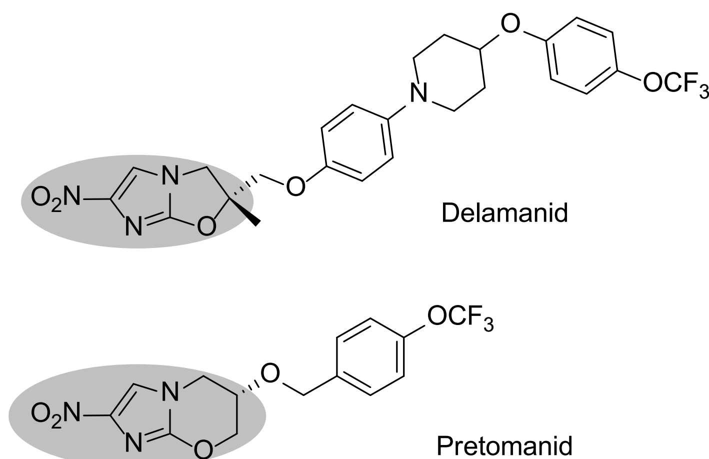
2.12. Linezolid (xem bài “Kháng sinh oxazolidinone”)

2.13. β-lactam (xem bài “Kháng sinh họ β-lactam”)

Imipenem + cilastatin và meropenem luôn được sử dụng cùng với clavulanic acid (chỉ có ở dạng kết hợp với amoxicillin). Amoxicillin-clavulanic không được coi là thuốc lao bổ sung và không được dùng khi không có imipenem + cilastatin hoặc meropenem.

2.14. Nhóm bicyclic nitroimidazole

Delamanid và pretomanid là hai thuốc kháng lao mới có cấu trúc bicyclic nitroimidazole (Hình 5.13.49). Delamanid có cấu trúc 6-nitroimidazooxazole; pretomanid có cấu trúc 2-nitroimidazooxazine [30].



Hình 5.13.49. Cấu trúc của delamanid và pretomanid

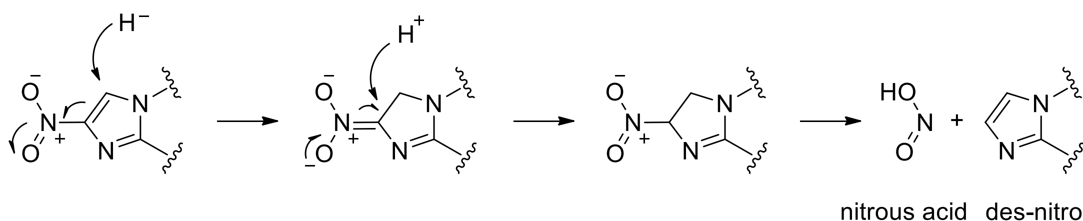
2.14.1. Tính chất lý hóa

Pretomanid và delamanid có tính thân dầu cao nên có thể dễ dàng xâm nhập vào trong tế bào vi khuẩn lao. Nhưng tính thân dầu cao làm cho thuốc kém tan trong nước và gắn với protein huyết tương.

2.14.2. Cơ chế tác dụng

Pretomanid và delamanid có cơ chế phức tạp và có khả năng tiêu diệt vi khuẩn lao dạng hoạt động lẫn dạng không hoạt động.

Trong tế bào, pretomanid và delamanid phải được hoạt hóa bởi deazaflavin-dependent nitroreductase (Ddn). Enzyme này khử nhóm nitro và giải phóng nitrous acid và tạo sản phẩm des-nitro. Vitrous acid kém bền và phân hủy thành nitric oxide (NO) - tác nhân độc tế bào, có tác dụng diệt khuẩn trong môi trường nghèo oxygen (vi khuẩn lao dạng không hoạt động) [31].



Hình 5.13.50. Cơ chế khử pretomanid/delamanid của Ddn

Đối với vi khuẩn lao dạng hoạt động, pretomanid và delamanid ức chế một bước trong chuỗi phản ứng sinh tổng hợp mycolic acid (phản ứng tạo ketomycolate từ hydroxymycolate) [32].

2.14.3. Quan hệ cấu trúc - tác động

- Hoạt tính của một hợp chất tỷ lệ thuận với khả năng gắn kết và kích hoạt bởi Ddn.

- Vòng nitroimidazole là rất quan trọng vì là vị trí phóng thích NO bởi Ddn.

- Nhóm thế ở vị trí số 2 của vòng imidazole (oxygen đối với pretomanid và delamanid) có vai trò quan trọng cho hoạt tính trên vi khuẩn dạng hoạt động. Có thể thay thế oxygen bằng nitrogen hoặc lưu huỳnh mà không ảnh hưởng đến hoạt tính. Các nhóm thế rút điện tử làm giảm hoạt tính.

- Các dẫn xuất 6-(*S*)-aminopretomanid (oxygen được thay bằng nitrogen) cho hoạt tính tốt và cải thiện độ tan.

- Phần đuôi kỵ nước gắn với nhân bicyclic nitroimidazole: có nhiều khả năng thay đổi như kéo dài chuỗi, thêm/thay thế các cấu trúc vòng, thay đổi nhóm thế trên vòng (như -OCF_3, -CF_3, -F, -SCF_3,…),… nhằm cải thiện dược động học cũng như hoạt tính [33,34].

2.14.4. Dược động học

Pretomanid và delamanid được dùng đường uống trong bữa ăn để làm tăng độ hấp thu của thuốc. Thời gian bán thải của pretomanid là 16 giờ; của delamanid là 30-38 giờ. Pretomanid và delamanid được chuyển hóa bởi CYP3A4.

Pretomanid dùng trong phối hợp thuốc với bedaquiline và linezolid [35].

2.14.5. Tác dụng phụ - độc tính

Phối hợp thuốc pretomanid-bedaquiline-linezolid thường gây buồn nôn, nôn mửa và tăng transaminase [36].

Delamanid có nguy cơ làm kéo dài khoảng QT nên cần tránh dùng chung với các thuốc ức chế CYP3A4 và các thuốc có thể làm kéo dài khoảng QT. Một số tác dụng phụ thường gặp của delamanid là đánh trống ngực, mất ngủ, đau đầu, chóng mặt, ù tai, rối loạn tiêu hóa, đau cơ, khớp,…

3. ỨNG DỤNG ĐIỀU TRỊ

Theo Tổ chức Y tế Thế giới, mục đích của việc điều trị lao nhằm [6]:

- Điều trị khỏi bệnh và giúp bệnh nhân tái hòa nhập cộng đồng.

- Ngăn ngừa tử vong.

- Ngăn ngừa tái phát.

- Giảm sự lây lan của bệnh.

- Giảm đề kháng thuốc.

Để có hiệu quả điều trị cao và hạn chế tình trạng đề kháng kháng sinh của trực khuẩn lao, cần tuân thủ các quy tắc cơ bản trong phác đồ điều trị lao [1]:

- Phối hợp các thuốc chống lao.

- Phải dùng thuốc đúng liều.

- Phải dùng thuốc đều đặn.

- Phải dùng thuốc đủ thời gian và theo 2 giai đoạn tấn công và duy trì.

Liều dùng của các thuốc hàng đầu trong điều trị lao theo khuyến cáo của WHO được trình bày trong Bảng 5.13.2.

Bảng 5.13.2. Liều dùng của các thuốc hàng đầu trong điều trị lao (theo WHO)

Thuốc	**Liều khuyến cáo**			
	Liều hàng ngày		**3 lần/tuần**	
	Liều và khoảng liều (mg/kg thể trọng)	**Tối đa (mg)**	**Liều và khoảng liều (mg/kg thể trọng)**	**Liều hàng ngày tối đa (mg)**
Isoniazid	5 (4-6)	300	10 (8-12)	900
Rifampicin	10 (8-12)	600	10 (8-12)	600
Pyrazinamide	25 (20-30)	-	35 (30-40)	-
Ethambutol	15 (15-20)	-	30 (25-35)	-
Streptomycin	15 (12-18)		15 (12-18)	1.000

Câu hỏi tự lượng giá

1. Trình bày cấu tạo của màng tế bào trực khuẩn lao?
2. Phân tích mối liên quan cấu trúc - kiểm nghiệm và cấu trúc - tác dụng của isoniazid?
3. Phân tích liên quan cấu trúc tác dụng của pyrazinamide?
4. Phân tích liên quan cấu trúc tác dụng của rifampicin?
5. Cho biết vai trò của bedaquiline trong điều trị lao?

Danh mục từ viết tắt

Alr: D-alanine racemase
BDQ: bedaquiline
BK: bacille de Koch
DCS: D-cycloserine
Ddl: D-alanine ligase
Ddn: deazaflavin-dependent nitroreductase
DHFR: dihydrofolate reductase
DHFS: dihydrofolate synthase
DHPS: dihydropteroate synthase
EMB: ethambutol
ETH: ethionamide
INH: isoniazid
MAGP: mycolyl-arabinogalactan-peptidoglycan
MDR-TB: multidrug resistant tuberculosis
PABA: *p*-aminobenzoic acid
PAS: *p*-aminosalicylic acid
PLP: pyridoxal 5′-phosphate
POA: pyrazinoic acid
PTH: prothionamide
PZA: pyrazinamide
RIF: rifampin
RNAP: RNA polymerase
SAR: structure-activity relationship
XDR-TB: extensively drug resistant tuberculosis

Tài liệu tham khảo

1. Bộ Y tế. Hướng dẫn chẩn đoán, điều trị và dự phòng bệnh lao. 2015, tr.44-59.
2. Bộ Y tế. Cập nhật hướng dẫn điều trị bệnh lao kháng thuốc. 2021.
3. Dulberger CL, Rubin EJ, Boutte CC. The mycobacterial cell envelope-a moving target. Nat Rev Microbiol. 2020 Jan; 18(1):47-59.
4. Lemke TL. Antimycobacterial Agents. In: Lemke TL, Williams DA, Roche VF, Zito SW, editors. Foye's Principles of Medicinal Chemistry. 7th ed. United States: Lippincott Williams & Wilkins; 2013, pp.1176-1192.
5. WHO. WHO consolidated guidelines on drug-resistant tuberculosis treatment. 2019, pp.1-27.
6. WHO. Treatment of tuberculosis guidelines. 4th. 2010, pp.1-51.
7. Roth HJ, Eger K., Troschütz R. Pharmaceutical chemistry, Vol II. Ellis Horwood Limited, England, 1991.
8. British Pharmacopoeia. Vol I, II, III, 2015.
9. Alagarsamy V. Textbook of Medicinal chemistry, Vol II. Elsevier. 2010.
10. Rozwarski DA, Vilchèze C, Sugantino M, Bittman R, Sacchettini JC. Crystal structure of the Mycobacterium tuberculosis enoyl-ACP reductase, InhA, in complex with NAD+ and a C16 fatty acyl substrate. J Biol Chem. 1999 May 28; 274(22):15582-15589.
11. Rozwarski DA, Grant GA, Barton DH, Jacobs WR Jr, Sacchettini JC. Modification of the NADH of the isoniazid target (InhA) from Mycobacterium tuberculosis. Science. 1998 Jan 2; 279(5347):98-102.
12. Lempens P, Meehan CJ, Vandelannoote K et al. Isoniazid resistance levels of *Mycobacterium tuberculosis* can largely be predicted by high-confidence resistance-conferring mutations. Sci Rep. 2018 Feb; 8:3246.
13. Beale JM. Anti-infective Agents, In: Beale JH, Blook JM, editors. Wilson and Griswold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry. 12th ed. United States. Lippincott Williams & Wilkins. 2011, pp.214-220.
14. Zhang Y, Shi W, Zhang W, Mitchison D. Mechanisms of Pyrazinamide Action and Resistance. Microbiol Spectr. 2013; 2(4):1-12.
15. Kathryn E. Bergmann, Michael H. Cynamon, and John T. Welch. Quantitative Structure-Activity Relationships for the *in Vitro* Antimycobacterial Activity of Pyrazinoic Acid Esters. J Med Chem. 1996; 39(17):3394-3400.

16. Zhang L, Zhao Y, Gao Y, Wu L, Gao R, Zhang Q et al. Structures of cell wall arabinosyltransferases with the anti-tuberculosis drug ethambutol. Science. 2020 Jun 12; 368(6496):1211-1219.
17. Scardigli A, Caminero JA, Sotgiu G, Centis R, D'Ambrosio L, Migliori GB. Efficacy and tolerability of ethionamide versus prothionamide: a systematic review. Eur Respir J. 2016 Sep; 48(3):946-952.
18. Costa-Gouveia J, Pancani E, Jouny S, Machelart A, Delorme V, Salzano G et al. Combination therapy for tuberculosis treatment: pulmonary administration of ethionamide and booster co-loaded nanoparticles. Sci Rep. 2017 Jul; 7:5390.
19. Vale N, Duarte D, Correia A, Alves C, Figueiredo P, Santos HA. New insights into ethionamide metabolism: influence of oxidized methionine on its degradation path. RSC Medicinal Chemistry. 2020; 11(12):1423-1428.
20. Zheng J, Rubin EJ, Bifani P, Mathys V, Lim V, Au M, Jang J, Nam J, Dick T, Walker JR, Pethe K, Camacho LR. para-Aminosalicylic acid is a prodrug targeting dihydrofolate reductase in Mycobacterium tuberculosis. J Biol Chem. 2013 Aug 9; 288(32):23447-23456.
21. Malspeis L, Gold D. Stability of cycloserine in buffered aqueous solutions. J Pharm Sci. 1964 Oct; 53:1173-1180.
22. de Chiara C, Homšak M, Prosser GA et al. D-Cycloserine destruction by alanine racemase and the limit of irreversible inhibition. Nat Chem Biol. 2020 Mar; 16:686-694.
23. Batson S, de Chiara C, Majce V et al. Inhibition of D-Ala:D-Ala ligase through a phosphorylated form of the antibiotic D-cycloserine. Nat Commun. 2017 Dec; 8:1939.
24. Preiss L, Langer JD, Yildiz Ö, Eckhardt-Strelau L, Guillemont JEG, Koul A et al. Structure of the mycobacterial ATP synthase Fo rotor ring in complex with the anti-TB drug bedaquiline. Sci. Adv. 2015 May; 1(4):e1500106.
25. Guillemont J, Meyer C, Poncelet A, Bourdrez X, Andries K. Diarylquinolines, synthesis pathways and quantitative structure-activity relationship studies leading to the discovery of TMC207. Future Med Chem. 2011 Sep; 3(11):1345-1360.
26. Guo H, Courbon GM, Bueler SA et al. Structure of mycobacterial ATP synthase bound to the tuberculosis drug bedaquiline. Nature. 2021 Jan; 589:143-147.
27. Blaser A, Sutherland HS, Tong AST, Choi PJ, Conole D, Franzblau SG et al. Structure-activity relationships for unit C pyridyl analogues of the tuberculosis drug bedaquiline. Bioorg Med Chem. 2019 Apr 1; 27(7):1283-1291.

28. Sutherland HS, Tong AST, Choi PJ, Blaser A, Conole D, Franzblau SG et al. 3,5-Dialkoxypyridine analogues of bedaquiline are potent antituberculosis agents with minimal inhibition of the hERG channel. Bioorg Med Chem. 2019 Apr 1; 27(7):1292-1307.

29. Sarathy JP, Ragunathan P, Shin J, Cooper CB, Upton AM, Grüber G et al. TBAJ-876 retains bedaquiline's activity against subunits c and ε of Mycobacterium tuberculosis F-ATP synthase. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2019 Sep; 63(10):e01191-19.

30. Sharma A, De Rosa M, Singla N, Singh G, Barnwal RP, Pandey A. Tuberculosis: An Overview of the Immunogenic Response, Disease Progression, and Medicinal Chemistry Efforts in the Last Decade toward the Development of Potential Drugs for Extensively Drug-Resistant Tuberculosis Strains. J Med Chem. 2021 Apr 22; 64(8):4359-4395.

31. Singh R, Manjunatha U, Boshoff HI, Ha YH, Niyomrattanakit P, Ledwidge R, Dowd CS, Lee IY, Kim P, Zhang L, Kang S, Keller TH, Jiricek J, Barry CE 3rd. PA-824 kills nonreplicating Mycobacterium tuberculosis by intracellular NO release. Science. 2008 Nov 28; 322(5906):1392-1395.

32. Stover CK, Warrener P, VanDevanter DR, Sherman DR, Arain TM, Langhorne MH, et al. A small-molecule nitroimidazopyran drug candidate for the treatment of tuberculosis. Nature 2000; 405:962-966.

33. Kim P, Kang S, Boshoff HI, Jiricek J, Collins M, Singh R et al. Structure-activity relationships of antitubercular nitroimidazoles. 2. Determinants of aerobic activity and quantitative structure-activity relationships. J Med Chem. 2009 Mar 12; 52(5):1329-1344.

34. Showalter HD. Recent Progress in the Discovery and Development of 2-Nitroimidazooxazines and 6-Nitroimidazooxazoles to Treat Tuberculosis and Neglected Tropical Diseases. Molecules. 2020 Sep 10; 25(18):4137.

35. Conradie F, Diacon AH, Ngubane N, Howell P, Everitt D, Crook AM et al. Nix-TB Trial Team. Treatment of Highly Drug-Resistant Pulmonary Tuberculosis. N Engl J Med. 2020 Mar 5; 382(10):893-902.

36. Ding RD, Zhang HJ. Effect of linezolid on serum PCT, ESR, and CRP in patients with pulmonary tuberculosis and pneumonia. Medicine (Baltimore). 2018; 97(37):e12177.

5.14. THUỐC KHÁNG PHONG

Các hoạt chất được đề cập

Dapsone Clofazimine Rifampicin

1. GIỚI THIỆU

1.1. Bệnh phong

Trước đây, bệnh phong phổ biến ở các vùng khí hậu ôn đới. Ngày nay, bệnh giới hạn ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới.

Nguyên nhân lây truyền của bệnh phong chưa được hiểu rõ, có thể do hít phải những giọt dịch tiết chứa tác nhân gây bệnh, *Mycobacterium leprae,* cũng có thể do tiếp xúc qua da. 95% cá thể tiếp xúc với *M. leprae* sẽ không phát bệnh, chứng tỏ khả năng miễn dịch của vật chủ đóng vai trò quan trọng trong quá trình phát triển của bệnh. Thời gian ủ bệnh thay đổi từ 2 đến 20 năm hoặc lâu hơn.

Cuộc chiến chống bệnh phong đã có thành công đáng kể vì bệnh phong không còn là vấn đề sức khỏe cộng đồng (khi tỷ lệ hiện mắc dưới 1/10.000 dân số) vào năm 2000 trên toàn cầu. Tuy nhiên, số bệnh nhân mắc mới vẫn nhiều, hơn 200.000 vào năm 2016 [1].

Bệnh phong là bệnh mạn tính do trực khuẩn *M. leprae* gây ra. Bệnh ảnh hưởng chủ yếu đến da và dây thần kinh ngoại biên, biểu hiện bởi các nốt sần trên da và mất cảm giác. Sau khi xâm nhập vào cơ thể, vi khuẩn sẽ nhân lên, tạo ra phản ứng kháng nguyên kháng thể và phản ứng dị ứng.

Theo WHO, bệnh phong được chia thành hai nhóm. Cách phân loại này hiện được dùng trên toàn thế giới cho các mục đích điều trị [1]:

- Nhóm ít khuẩn (PB - Paucibacillary): là bệnh phong với 1 đến 5 tổn thương da, không có trực khuẩn trong phết tế bào da.

- Nhóm nhiều khuẩn (MB - Multibacillary): là bệnh phong với hơn 5 tổn thương da; hoặc có liên quan đến thần kinh (viêm dây thần kinh, hoặc số lượng tổn thương da bất kỳ và viêm dây thần kinh); hoặc có trực khuẩn trong vết rạch da, bất kể số lượng tổn thương da.

Ngoài ra, bệnh phong có thể được chia thành nhiều nhóm hơn, cách phân loại này được dùng cho mục đích nghiên cứu [2]:

- Thể củ (Tuberculoid leprosy): Đặc trưng bởi các nốt trên da có trung tâm và rìa rõ ràng.

- Thể u (Lepromatous leprosy): Vị trí nhiễm tập trung rất nhiều vi khuẩn phong và có những phản ứng phong đặc trưng.

- Thể bất định (Intermediate leprosy): Có sự giảm sắc tố khu trú với biểu hiện mất cảm giác.

- Thể trung gian (Borderline leprosy): Là giai đoạn trung gian giữa bệnh phong củ và phong u.

1.2. Thuốc kháng phong

Cho đến những năm 1940, dapsone - thuốc đầu tiên điều trị hiệu quả bệnh phong mới xuất hiện. Quá trình điều trị phong bằng dapsone phải kéo dài hàng năm đến suốt đời. Đến những năm 1950, tình trạng đề kháng của *M. leprae* đã trở nên lan rộng.

Từ năm 1981, WHO khuyến nghị phác đồ điều trị 3 thuốc gồm rifampicin, dapsone và clofazimine cho tất cả bệnh nhân phong, với thời gian điều trị 6 tháng đối với bệnh phong ít trực khuẩn (paucibacillary - PB) và 12 tháng đối với dạng nhiều trực khuẩn (multibacillary - MB).

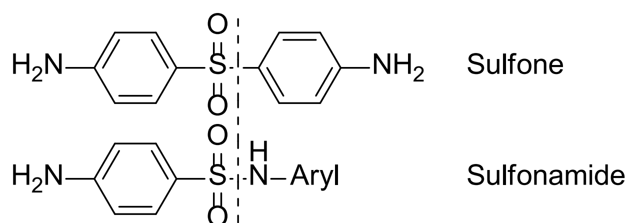
Đối với vi khuẩn phong kháng rifampicin, các hướng dẫn khuyến cáo điều trị bằng ít nhất hai thuốc hàng thứ hai (clarithromycin, minocycline hoặc quinolone) cộng với clofazimine mỗi ngày trong 6 tháng, sau đó là clofazimine cộng với một trong những thuốc này trong 18 tháng nữa. Nếu vi khuẩn kháng ofloxacin, không nên dùng fluoroquinolone như thuốc hàng thứ 2 trong điều trị. Khi đó, nên dùng clarithromycin, minocycline và clofazimine trong 6 tháng, tiếp theo là clarithromycin hoặc minocycline và clofazimine thêm 18 tháng [1].

2. CÁC THUỐC ĐIỀU TRỊ PHONG

2.1. Dapsone

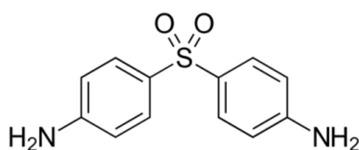
2.1.1. Giới thiệu

Dapsone là kháng sinh thuộc nhóm sulfone. Sulfone thu được từ việc nghiên cứu SAR của sulfonamide.



Hình 5.14.1. So sánh cấu trúc của sulfone và sulfonamide

Các biến đổi cấu trúc đã tạo ra các hoạt chất mới, tuy nhiên, chưa có hoạt chất nào có lợi hơn so với chất ban đầu là dapsone.



Hình 5.14.2. Dapsone

Tên gọi khác: 4,4′-diaminodiphenylsulfone; 4,4′-sulfonyldianiline; bis(4-aminophenyl) sulfone, DDS.

2.1.2. Tính chất lý hóa, kiểm nghiệm

Tính chất lý hóa [3]

Dapsone tồn tại ở dạng bột kết tinh màu trắng hoặc hơi vàng trắng, gần như không tan trong nước, tan trong acetone và trong acid vô cơ loãng, có tính base rất yếu (pK_a của dạng acid liên hợp ~ 2.41).

Dapsone có hai dạng tinh thể: dạng I có nhiệt độ nóng chảy từ 175 - 176 °C, dạng II có nhiệt độ nóng chảy khoảng 180.5 °C dẫn đến sự khác nhau trong phổ hấp thụ IR.

Dapsone bị phân hủy dần trong ẩm.

Kiểm nghiệm [3,4]

- Định tính:

+ Điểm chảy từ 175 - 182 °C. Điểm chảy của DDS có thể khác nhau giữa các tài liệu do sự khác nhau về dạng tinh thể và khả năng tạo thành dạng hydrate tinh thể.

+ Cực đại hấp thụ UV-Vis trong methanol là 260 nm và 295 nm. Sự khác nhau về độ hấp thụ trong môi trường kiềm và trung tính không đáng kể, tuy nhiên, trong môi trường acid (HCl 2N) thì cần lưu ý (cực đại hấp thu ở 273 nm, 264 nm và 235 nm).

+ Định tính bằng sắc ký lớp mỏng bằng cách phun thuốc thử Bratton-Marshall sau khi diazo hóa pha rắn.

+ Phản ứng định tính amine thơm bậc nhất (phản ứng diazo hóa và kết hợp với β-naphthol).

- Định lượng: chuẩn độ thể tích bằng phép đo nitrite (tạo muối diazonium với nhóm amine thơm bậc nhất của dapsone). Xác định điểm tương đương bằng phép đo điện thế.

2.1.3. Cơ chế tác dụng

Dapsone là một kháng sinh kìm khuẩn có khả năng ức chế cạnh tranh với *p*-aminobenzoic acid (PABA) trong quá trình tổng hợp folic acid, tương tự kháng sinh nhóm sulfamide (xem thêm Bài sulfamide kháng khuẩn) [5].

Ngoài tác dụng kháng khuẩn, dapsone còn có tính kháng viêm nên hữu ích trong kiểm soát phản ứng phong (hồng ban nút phong).

2.1.4. Quan hệ cấu trúc tác dụng

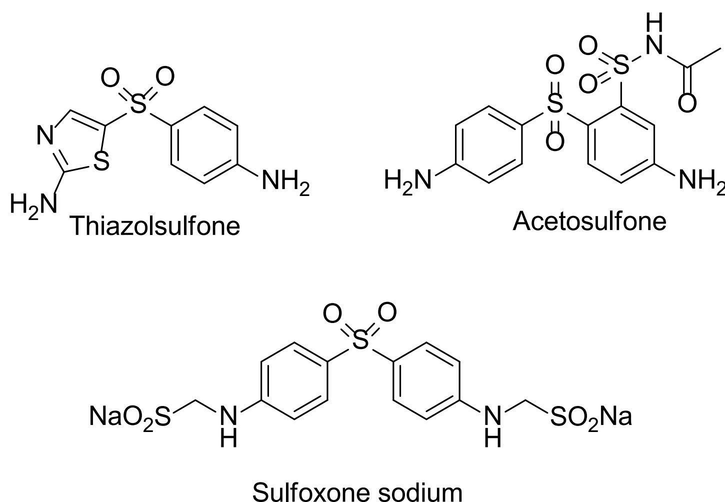
Một số dẫn xuất của dapsone đã được nghiên cứu nhằm tìm kiếm hoạt chất có hoạt tính mạnh hơn [5].

- Sự thay thế vị trí của vòng benzene có được thiazolsulfone. Hoạt chất này có hoạt tính yếu hơn dapsone.

- Thế trên vòng thơm thu được acetosulfone, giảm hoạt tính nhưng tăng khả năng hòa tan trong nước và giảm kích ứng đường tiêu hóa.

- Thêm methanesulfinate để tạo thành sulfoxone natri. Đây là dạng hòa tan trong nước, khi vào cơ thể sẽ được thủy phân thành dapsone. Sulfoxone natri được dùng cho bệnh nhân không dung nạp dapsone vì bị kích ứng đường tiêu hóa. Tuy nhiên, liều dùng của sulfoxone natri phải gấp ba lần dapsone vì quá trình chuyển hóa thành dapsone.

Các nghiên cứu biến đổi cấu trúc của dapsone để tạo dẫn chất mới vẫn đang được tiến hành để tìm kiếm hoạt chất có hoạt tính trên các chủng kháng *M. leprae*.



Hình 5.14.3. Một số dẫn xuất của dapson đang được nghiên cứu

2.1.5. Dược động học

Dapsone hấp thu khá tốt qua đường uống. Dù lượng hấp thu đủ để đạt hiệu quả trị liệu nhưng do kém tan nên hoạt chất có thể gây kích ứng đường tiêu hóa. Nồng độ đỉnh trong huyết tương đạt được sau 4 - 8 giờ. Dapsone liên kết với protein huyết tương khoảng ~70% và được phân phối khắp cơ thể. Sản phẩm chuyển hóa chính của dapsone do quá trình *N*-acetyl hóa trong gan bằng *N*-acetyltransferase. Dapsone cũng được *N*-hydroxyl

hóa để tạo dẫn xuất hydroxylamine. Những phản ứng chuyển hóa này được xúc tác bởi CYP3A4. Những chất chuyển hóa không có hoạt tính kháng phong đáng kể, dù *N*-acetyldiaminodiphenylsulfone có thể bị deacetyl trở lại dapsone. Các sản phẩm được tìm thấy trong nước tiểu bao gồm một lượng nhỏ dapsone, *N*-acetyldiaminodiphenylsulfone, *N*-hydroxydiaminodiphenylsulfone và dạng liên hợp glucuronide và sulfate của các chất này. *N*-hydroxydiaminodiphenylsulfone có thể gây methemoglobin huyết.

2.1.6. Tác dụng phụ

- Tan máu, methemoglobin, tăng tiểu cầu.
- Mất thị lực vĩnh viễn.
- Viêm gan, quá mẫn.
- Gây đau hoặc 'abces' nơi tiêm.

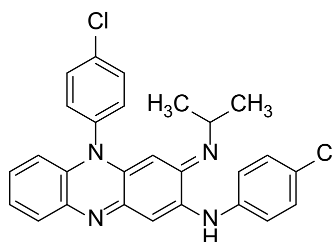
2.1.7. Dạng dùng

Viên nén 25 mg hoặc 100 mg.

2.2. Clofazimine (CFZ)

2.2.1. Giới thiệu

Clofazimine là hoạt chất duy nhất thuộc nhóm kháng sinh riminophenazine được dùng trong điều trị phong. Clofazimine còn được WHO đưa vào danh sách thuốc kháng lao hàng thứ hai.



Hình 5.14.4. Clofazimine

Tên IUPAC: *N*,5-bis(4-chlorophenyl)-3-[(1-methylethyl)imino]-3,5-dihydrophenaz-in-2-amine

2.2.2. Tính chất lý hóa, kiểm nghiệm

Tính chất: Clofazimine là bột mịn màu nâu đỏ, thực tế không tan trong nước, tan trong dichloromethane, rất ít tan trong ethanol. Clofazimine có tính đa hình.

Kiểm nghiệm

- *Định tính:*

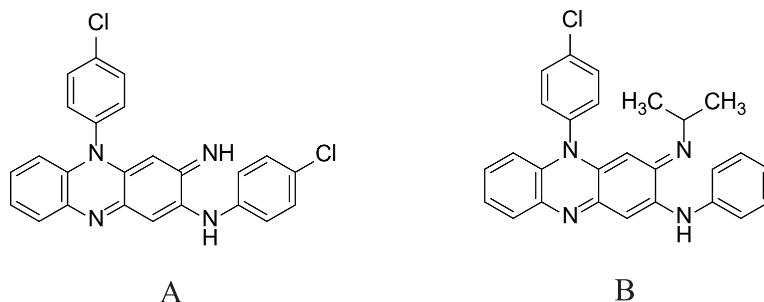
+ Đo phổ IR so với phổ đối chiếu.

Nếu phổ thu được không giống nhau, có thể hòa tan riêng biệt mẫu thử và mẫu chuẩn trong dichloromethane, làm bay hơi tới cắn khô và đo lại phổ IR.

+ Sắc ký lớp mỏng hai chiều: phát hiện vết dưới đèn tử ngoại 254 nm.

+ Hòa tan chế phẩm trong acetone, thêm dung dịch hydrochloric acid, hỗn hợp cho màu tím đậm. Thêm dung dịch natri hydroxide, hỗn hợp chuyển sang màu vàng cam.

- *Thử tinh khiết:* Kiểm tạp *N*,5-bis(4-chlorophenyl)-3-imino-3,5-dihydrophenazin-2-amine) (tạp A) và 5-(4-chlorophenyl)-3-[(1-methylethyl)imino]-*N*-phenyl-3,5-dihydrophenazin-2-amine (tạp B) [4].

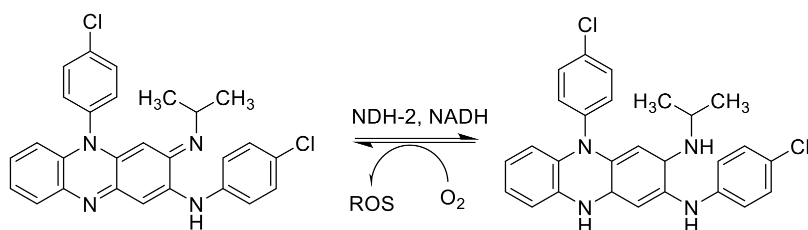


Hình 5.14.5. Tạp A và B của clofazimine

- *Định lượng:* Hòa tan mẫu trong dichloromethane, thêm acetone và acetic acid khan rồi chuẩn độ bằng perchloric acid 0.1 M. Xác định điểm tương đương bằng phép đo điện thế.

2.2.3. Cơ chế kháng khuẩn

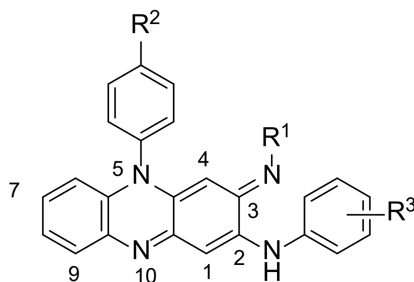
Cơ chế tác dụng của thuốc chưa rõ ràng nhưng có thể liên quan đến khả năng tạo gốc tự do (reactive oxygen species, ROS). Các nghiên cứu gần đây cho thấy CFZ bị khử bởi enzyme NADH dehydrogenase loại 2 (NDH-2) của vi khuẩn. CFZ dạng khử có thể bị oxy hóa bởi O_2, đồng thời giải phóng ra ROS gây độc tế bào [6].



Hình 5.14.6. Cơ chế oxy hóa - khử của CFZ

Bên cạnh hoạt tính kháng khuẩn, CFZ có thể ức chế miễn dịch trực tiếp, làm tăng tổng hợp prostaglandin và tạo ra các chất oxy hóa có hoạt tính kháng khuẩn từ bạch cầu trung tính, đóng góp vào hiệu quả điều trị bệnh phong [7].

2.2.4. Quan hệ cấu trúc - tác dụng



Hình 5.14.7. Cấu trúc chung của các dẫn xuất nhóm riminophenazine

Trong những năm gần đây, CFZ được đưa vào danh mục thuốc kháng lao hàng thứ hai nên nghiên cứu liên quan cấu trúc - tác dụng của các dẫn xuất của CFZ được chú ý nhiều hơn, nhằm tìm ra thuốc mới ít thân dầu hơn để giảm tác dụng phụ, nhưng vẫn duy trì/cải thiện hoạt tính [8,9].

- Nhìn chung, các thay đổi cấu trúc làm thay đổi thế oxy hóa - khử của CFZ dẫn đến thay đổi hoạt tính kháng khuẩn.

- Hoạt chất phải có tính thân dầu để thấm qua màng tế bào vi khuẩn và tương tác với NDH-2 (thuộc chuỗi chuyền điện tử nằm trong màng tế bào).

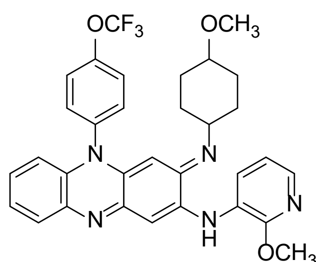
- Vòng phenazine rất cần thiết cho hoạt tính kháng khuẩn.

- Nhóm imino ở C3 là cần thiết vì liên quan đến cơ chế oxy hóa - khử của CFZ. Nhóm R^1 có thể là các cấu trúc dạng vòng.

- Hai vòng thơm (phenyl) gắn trên C2 và N5 là cần thiết nhưng có thể thay bằng vòng pyridyl và cải thiện tính chất lý hóa và dược động học.

- Nhóm thế rút electron trên vòng phenyl ở N5 (nhóm R^2) có vẻ quan trọng cho hoạt tính. Cl có thể được thay bằng F, Br, OCF_3, hay CF_3.

Pyrifazimine, một dẫn xuất của CFZ, ít gây đổi màu da và có hoạt tính tốt trên vi khuẩn lao kháng thuốc, đang được thử lâm sàng giai đoạn hai (năm 2021).



Hình 5.14.8. Pyrifazimine

2.2.5. Dược động học

Tỉ lệ clofazimine được hấp thu từ đường tiêu hóa dao động từ 45 - 70%. Sự hấp thu tốt nhất khi clofazimine được dùng ở dạng vi tinh thể và được uống ngay sau khi ăn hoặc dùng chung với sữa. Do tính chất thân lipid, clofazimine chủ yếu được phân phối đến mô mỡ và tế bào lưới nội mô, kể cả đại thực bào. Clofazimine đến được hầu hết các cơ quan, mô và vào sữa mẹ; vượt qua nhau thai nhưng không qua hàng rào máu não. Thời gian bán thải sau liều duy nhất khoảng 10 ngày; sau khi uống nhiều lần thì từ 25 đến 90 ngày. Clofazimine tích tụ trong cơ thể và được bài tiết theo phân phần lớn ở dạng không thay đổi. Khoảng 1% liều dùng được thải trừ trong 24 giờ trong nước tiểu dưới dạng clofazimine không thay đổi và chất chuyển hóa. Clofazimine khử halogen trên 3-chloroaniline rồi liên hợp sulfate và 4-hydroxyl hóa, liên hợp glucuronic acid.

2.2.6. Tác dụng phụ

Tác dụng phụ của clofazimine liên quan đến liều lượng và tính thân lipid, phổ biến nhất là đổi màu da từ đỏ đến nâu đặc biệt là trên các khu vực tiếp xúc với ánh sáng mặt trời, dễ thấy nhất ở những người da sáng. Kết mạc và giác mạc cũng có thể có màu đỏ đến nâu. Đổi màu tóc, nước mắt, mồ hôi, đờm, sữa mẹ, nước tiểu và phân, cũng như móng tay đổi màu với liều cao clofazimine, 300 mg mỗi ngày. Các biến đổi màu sắc này sẽ hết sau khi ngừng dùng thuốc vài tháng hoặc một năm.

Tác dụng trên đường tiêu hóa ít xảy ra khi dùng liều dưới 100 mg mỗi ngày. Các triệu chứng buồn nôn, nôn và đau bụng xảy ra ngay sau khi bắt đầu điều trị có thể do kích ứng trực tiếp đường tiêu hóa.

2.2.7. Dạng dùng

Viên nang 50 mg.

2.3. Rifampicin (RIF)

Xem phần thuốc kháng lao.

Ngoài bệnh lao, rifampicin còn được dùng để điều trị phong khi được sử dụng kết hợp với dapsone và clofazimine.

3. ỨNG DỤNG TRỊ LIỆU

Theo khuyến cáo của WHO (2018), phác đồ điều trị cần kết hợp nhiều thuốc và dùng trong thời gian dài để đảm bảo hiệu quả điều trị và giảm sự đề kháng lan rộng [1].

Đối với vi khuẩn phong kháng thuốc, tránh dùng thuốc bị đề kháng và cần phối hợp thêm các thuốc kháng sinh quinolone, tetracycline hoặc macrolide.

Khuyến cáo của WHO trong điều trị bệnh phong và bệnh phong kháng thuốc được trình bày trong Bảng 5.14.1 và Bảng 5.14.2.

Bảng 5.14.1. Phác đồ điều trị bệnh phong (theo WHO) [1]

Nhóm tuổi	Thuốc	Liều và tần suất dùng	Thời gian dùng	
			MB	PB
Người lớn	Rifampicin	600 mg mỗi tháng một lần	12 tháng	6 tháng
	Clofazimine	300 mg mỗi tháng 1 lần và 50 mg mỗi ngày		
	Dapsone	100 mg mỗi ngày		
Trẻ em (10 - 14 tuổi)	Rifampicin	450 mg mỗi tháng 1 lần	12 tháng	6 tháng
	Clofazimine	150 mg mỗi tháng 1 lần, 50 mg cách 1 ngày		
	Dapsone	50 mg mỗi ngày		
Trẻ em (< 10 tuổi hoặc < 40 kg)	Rifampicin	10 mg/kg mỗi tháng 1 lần	12 tháng	6 tháng
	Clofazimine	100 mg mỗi tháng 1 lần, 50 mg × 2 lần/tuần		
	Dapsone	2 mg/kg mỗi ngày		

Bảng 5.14.2. Phác đồ điều trị bệnh phong kháng thuốc (theo WHO)

Loại đề kháng	Điều trị	
	6 tháng đầu tiên (mỗi ngày)	**18 tháng tiếp theo (mỗi ngày)**
Đề kháng rifampicin	Ofloxacin 400 mg* + minocycline 100 mg + clofazimine 50 mg	Ofloxacin 400 mg* hoặc + minocycline 100 mg + clofazimine 50 mg
	Ofloxacin 400 mg* + clarithromycin 500 mg + clofazimine 50 mg	Ofloxacin 400 mg* + clofazimine 50 mg
Đề kháng rifampicin và ofloxacin	Clarithromycin 500 mg + minocycline 100 mg + clofazimine 50 mg	Clarithromycin 500 mg hoặc minocycline 100 mg + clofazimine 50 mg

*Ofloxacin 400 mg có thể thay bằng levofloxacin 500 mg hoặc moxifloxacin 400 mg.

Câu hỏi tự lượng giá

1. Phân tích mối liên quan giữa đặc điểm sinh trưởng và phát triển của vi khuẩn phong và việc sử dụng thuốc trong điều trị phong?
2. Phân tích mối liên quan cấu trúc tác dụng của dapsone?
3. Phân tích mối liên quan cấu trúc và kiểm nghiệm của dapsone?
4. Cho ví dụ minh họa mối liên quan giữa tính chất lý hóa và tác dụng phụ của clofazimine?
5. Phân tích mối liên quan cấu trúc tác dụng của clofazimine?

Danh mục từ viết tắt

CFZ: clofazimine

DDS: dapsone

PABA: *p*-aminobenzoic acid

RIF: rifampicin

Tài liệu tham khảo

1. WHO. Guidelines for the diagnosis, treatment and prevention of leprosy. 2018, pp.1-20.

2. Alagarsamy V. Textbook of Medicinal chemistry. Vol II. Elsevier, 2010.

3. Roth HJ, Eger K., Troschütz R. Pharmaceutical chemistry. Vol II. Ellis Horwood Limited, England, 1991.

4. British Pharmacopoeia. Vol I. 2015.

5. Lemke TL. Antimycobacterial Agents. In: Lemke TL, Williams DA, Roche VF, Zito SW, editors. Foye's Principles of Medicinal Chemistry. 7th ed. United States: Lippincott Williams & Wilkins; 2013. pp.1176-1192.

6. Yano T, Kassovska-Bratinova S, Teh JS, Winkler J, Sullivan K, Isaacs A et al. Reduction of clofazimine by mycobacterial type 2 NADH: quinone oxidoreductase: a pathway for the generation of bactericidal levels of reactive oxygen species. J Biol Chem. 2011 Mar 25; 286(12):10276-10287.

7. Beale JM. Anti-infective Agents, In: Beale JH, Blook JM, editors. Wilson and Griswold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry. 12th ed. United States. Lippincott Williams & Wilkins, 2011. pp.214-240.

8. Liu B, Liu K, Lu Y, Zhang D, Yang T, Li X et al. Systematic evaluation of structure-activity relationships of the riminophenazine class and discovery of a C2 pyridylamino series for the treatment of multidrug-resistant tuberculosis. Molecules. 2012 Apr 17; 17(4):4545-4559.

9. Xu J, Wang B, Fu L, Zhu H, Guo S, Huang H et al. *In vitro* and *in vivo* activities of the Riminophenazine TBI-166 against *Mycobacterium tuberculosis*. Antimicrob Agents Chemother. 2019 Apr 25; 63(5):e02155-18.

Chương 6

THUỐC KHÁNG NẤM

Đinh Châu Phi

Hoạt chất được đề cập

Miconazole	Isavuconazole	Echinocandin
Clotrimazole	Ravuconazole	Caspofungin
Ketoconazole	Terbinafine	Micafungin
Itraconazole	Naftifine	Anidulafungin
Fluconazole	Butenafine	Flucytosine
Voriconazole	Amphotericin B	Griseofulvin
Posaconazole	Nystatin	

1. GIỚI THIỆU CHUNG

Nhiễm nấm là một mối đe dọa thường trực đến sức khỏe con người, đặc biệt đối với người dân ở các nước đang phát triển, các nước vùng nhiệt đới nơi có điều kiện thuận lợi cho sự sinh sôi của các loại nấm gây hại. Trong những thập kỷ qua, tỷ lệ mắc và sự đa dạng của các bệnh nhiễm nấm cơ hội phát triển cùng với sự gia tăng số lượng các bệnh nhân suy giảm miễn dịch. Đại dịch virus suy giảm miễn dịch ở người (HIV), công nghệ cấy ghép nội tạng, cấy ghép tế bào gốc, và sự ra đời của các loại thuốc ức chế miễn dịch mới, đều được cho là nguyên nhân chung làm tăng tỷ lệ nhiễm nấm toàn thân.

Thuốc kháng nấm đầu tiên, amphotericin B deoxycholate, được giới thiệu vào năm 1958, có hoạt tính kháng nấm phổ rộng nhưng có độc tính đáng kể trên thận và các phản ứng truyền dịch [1]. Flucytosine, một chất tương tự pyrimidine được giới thiệu vào năm 1973, có hoạt tính chống lại nấm *Candida* và *Cryptococcus*. Tuy nhiên, việc sử dụng hoạt chất này bị hạn chế bởi sự xuất hiện của kháng thuốc và độc tính [2]. Thuốc nhóm azole, đặc biệt là fluconazole và itraconazole, đã có mặt vào những năm 1990, có ưu điểm nổi bật là có thể được sử dụng qua đường uống và có hoạt tính tốt chống lại các mầm bệnh nấm men. Nhược điểm của nhóm azole là các thuốc này tương tác với cytochrome P450 (CYP450) và gây nhiều tương tác thuốc [3]. Các dạng bào chế amphotericin B kết hợp lipid được giới thiệu vào những năm 1990 giúp giảm độc tính [4]. Thuốc echinocandin có mặt trên thị trường vào những năm 2000 và có hoạt tính mạnh chống lại *Candida* và ít

gây tương tác thuốc; thuốc này chỉ có ở dạng tiêm [5]. Thuốc nhóm azole thế hệ mới, như voriconazole, posaconazole và isavuconazole, được đưa ra thị trường từ những năm 2000. Ưu điểm chính của các thuốc này là mở rộng phổ hoạt động trên nấm sợi [6].

2. CÁC DẠNG CƠ CHẾ TÁC DỤNG

Các cơ chế tác dụng kháng nấm được mô tả trong Hình 6.1. Các cơ chế chính bao gồm:

- Ức chế sự tổng hợp ergosterol (nhóm azole, nhóm allylamine).

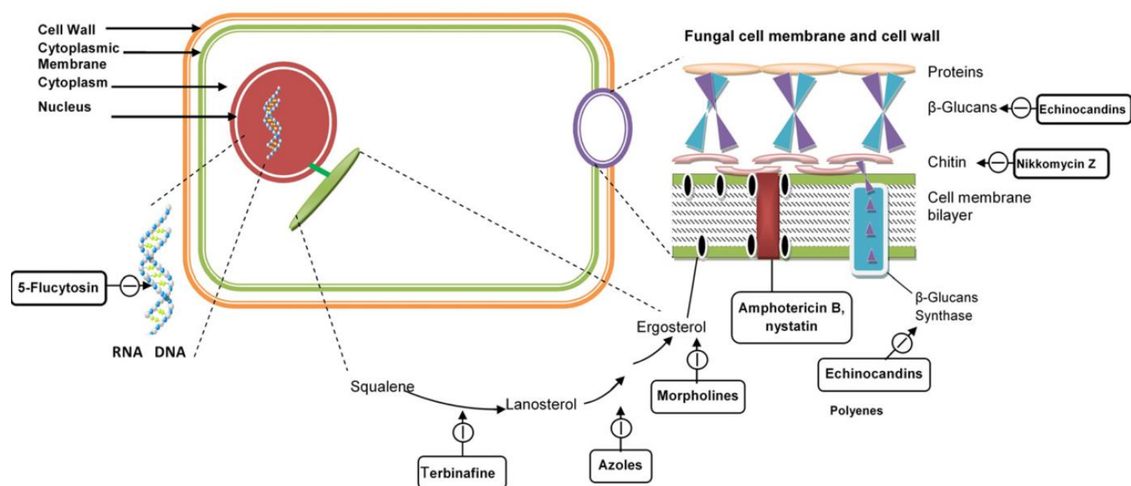
- Phá hủy thành tế bào nấm (nhóm polyene).

- Ức chế tổng hợp glucan (nhóm echinocandin).

- Ức chế tổng hợp nucleic acid (flucytosine).

- Ức chế hình thành microtubule (griseofulvin).

Một trong những thành phần quan trọng cấu thành nên màng tế bào nấm là phân tử ergosterol (trong khi ở người là cholesterol). Phân tử này đóng vai trò điều chỉnh tính lưu động và bất đối xứng của màng tế bào. Các nhóm thuốc kháng nấm chính đều liên quan đến sự ức chế quá trình tổng hợp ergosterol (nhóm azole, nhóm allylamine) hoặc tạo phức với phân tử ergosterol (nhóm polyene) làm xáo trộn chức năng của màng tế bào nấm.



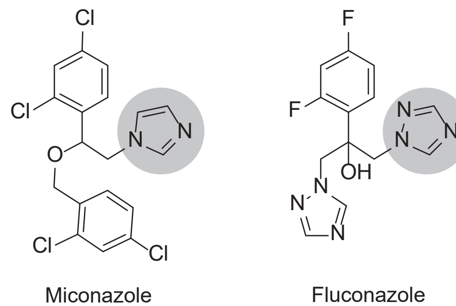
Hình 6.1. Các cơ chế tác dụng của thuốc kháng nấm [7]

3. CÁC NHÓM THUỐC KHÁNG NẤM

3.1. Nhóm azole

3.1.1. Cấu trúc

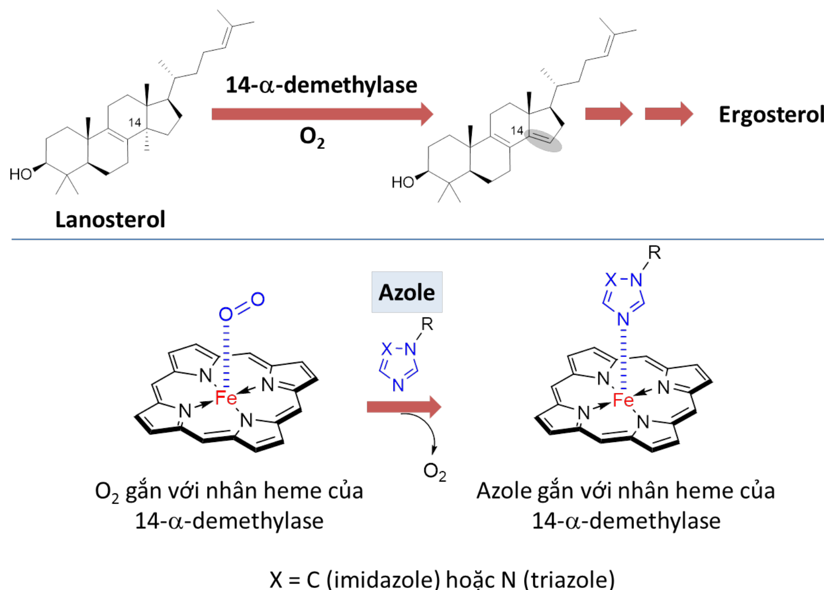
Thuốc kháng nấm nhóm azole bao gồm các dẫn xuất của imidazole (miconazole, clotrimazole, ketoconazole,…) và của triazole (fluconazole, itraconazole, posaconazole, isavuconazole,…) (Hình 6.2).



Hình 6.2. Azole đầu tiên dẫn xuất của imidazole (miconazole) và triazole (fluconazole)

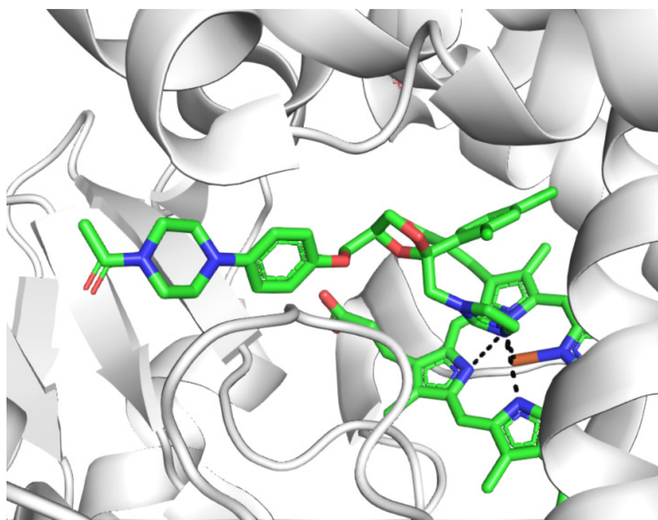
3.1.2. Cơ chế tác dụng

Các thuốc nhóm azole ức chế enzyme **14-α-demethylase** tham gia vào quá trình tổng hợp ergosterol từ lanosterol. 14-α-demethylase (còn được gọi là CYP51) thuộc họ protein cytochrome P450, có chứa nhân **heme,** hoạt động nhờ O_2 gắn vào Fe của heme, xúc tác phản ứng oxy hóa và tách loại nhóm methyl của lanosterol ở vị trí 14. Nguyên tử nitrogen của vòng azole cạnh tranh với O_2 tạo phức với Fe của heme gây ức chế enzyme (Hình 6.3).



Hình 6.3. Cơ chế tác động của các thuốc nhóm azole

Cấu trúc tinh thể của ketoconazole bên trong túi xúc tác của 14-α-demethylase cho thấy rằng nguyên tử nitrogen của vòng imidazole tạo phức với phân tử protoporphyrin và ion Fe^{2+} (heme). Các thành phần còn lại của phân tử ketoconazole không tạo ra thêm tương tác mạnh nào, tuy nhiên, vòng piperazine và 2 vòng phenyl góp phần tạo ra định hướng và các tương tác Van der Waals, giúp phân tử ketoconazole gắn chặt được vào túi xúc tác của enzyme.

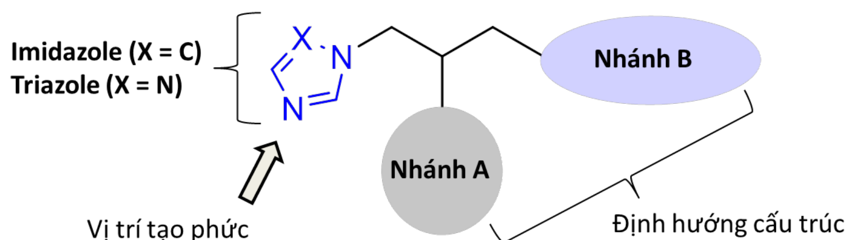


Hình 6.4. Cấu trúc tinh thể của ketoconazole trong túi xúc tác của 14-α-demethylase (PDB 3LD6) [8]

Ngoài khả năng ức chế CYP51 của nấm, các azole còn có tác dụng trên một số CYP ở người, đặt biệt là CYP51 của người. Tính kém chọn lọc này chính là nguyên nhân gây ra độc tính/tác dụng phụ trên gan. Vì vậy, tăng tính chọn lọc là một trong những mục tiêu chính trong nghiên cứu tạo ra các azole thế hệ mới.

3.1.3. Liên quan cấu trúc - tác dụng

Các azole có cấu trúc chung gồm vòng azole (imidazole hoặc triazole), đoạn nối từ 1 đến 3 nguyên tử nối vòng azole với hai nhánh A và B (Hình 6.5).



Hình 6.5. Cấu trúc chung của các azole

Nhìn chung, túi xúc tác của 14-α-demethylase gắn với cơ chất lanosterol nên có tính thân dầu cao. Vì vậy các chất ức chế enzyme gắn vào túi xúc tác cũng mang tính thân dầu cao [9].

- Vòng azole: không thể thiếu, tham gia liên kết với heme của 14-α-demethylase. Vòng triazole có ưu điểm hơn vòng imidazole.

- Đoạn nối 1-3 carbon: cấu dạng của carbon bất đối ảnh hưởng đến hoạt tính. Carbon có thể được thay thế bằng oxygen hoặc lưu huỳnh. Gắn nhóm OH ở carbon trung tâm có một số lợi thế như tạo liên kết hydro làm tăng ái lực với đích tác dụng; tăng độ tan trong nước và cải thiện dược động học; giúp gắn nhóm phosphate để tạo tiền dược.

- Nhánh A: là một phenyl có gắn nhóm thế halogen, cần thiết cho hoạt tính ức chế enzyme. Các nhóm thế lớn hơn halogen gây cản trở không gian và làm giảm hoạt tính.

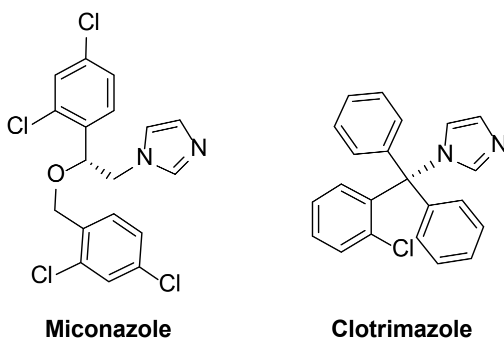
- Nhánh B: chủ yếu tạo tương tác kỵ nước với enzyme và có nhiều khả năng thay đổi cấu trúc để tối ưu hóa hoạt tính và dược động học. Nhánh B có thể ngắn (như fluconazole, voriconazole) hoặc dài (như itraconazole, posaconazole) nhưng nhánh dài làm tăng ái lực với đích tác động nên làm tăng hoạt tính.

Nhánh A, B góp phần tạo ra định hướng và các tương tác Van der Waals, giúp phân tử thuốc gắn chặt được vào túi xúc tác của enzyme.

3.1.4. Các thuốc trong nhóm

3.1.4.1. Imidazole thế hệ 1

Miconazole và clotrimazole là hai azole đầu tiên được sử dụng làm thuốc kháng nấm. Miconazole và clotrimazole không hấp thu qua đường uống nên chỉ có trong các dạng kem, thuốc mỡ trị nấm ngoài da; viên đặt âm đạo, thuốc đạn trị nấm âm đạo.

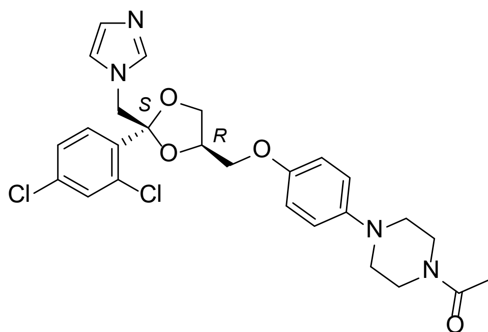


Hình 6.6. Azole thế hệ 1

3.1.4.2. Imidazole thế hệ 2

Ketoconazole (Hình 6.7) ra đời trong nỗ lực tìm ra thuốc kháng nấm có thể hấp thu đường uống. Ketoconazole là thuốc imidazole đầu tiên được sử dụng qua đường uống

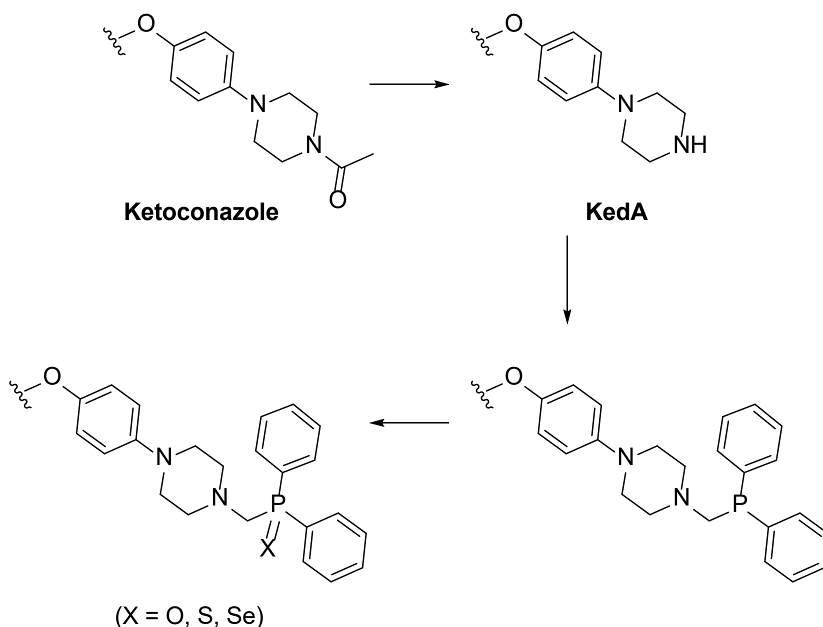
cho tác dụng toàn thân và có tác dụng kháng nấm phổ rộng. Nó có hiệu quả ở những bệnh nhân bị nấm *Candida, Coccidioides, Blastomyces* và nhiễm nấm ở da. Các tác dụng phụ thường gặp nhất có liên quan đến đường tiêu hóa, gây nhiễm độc gan do thuốc không có tác dụng chọn lọc lên 14-α-demethylase ở nấm. Do có nhiều tác dụng phụ, độc tính và có các azole khác ít độc hơn, ngày nay ketoconazole chỉ được dùng ngoài da.



Hình 6.7. Ketoconazole (đồng phân 2*S*,4*R*)

Ketoconazole có 2 carbon bất đối nên có 4 đồng phân quang học, trong đó đồng phân 2*S*,4*R* có hoạt tính mạnh nhất [10].

Một trong những chất chuyển hóa quan trọng của ketoconazole là KedA do sự loại bỏ của nhóm acetyl trong phân tử. Từ đây, các nhà nghiên cứu đã tổng hợp và thử nghiệm thành công 4 dẫn xuất của ketoconazole thay nhóm acetyl bằng (diphenylphosphino) methyl với những tác dụng sinh học *in vitro* khá hứa hẹn (Hình 6.8) [11].

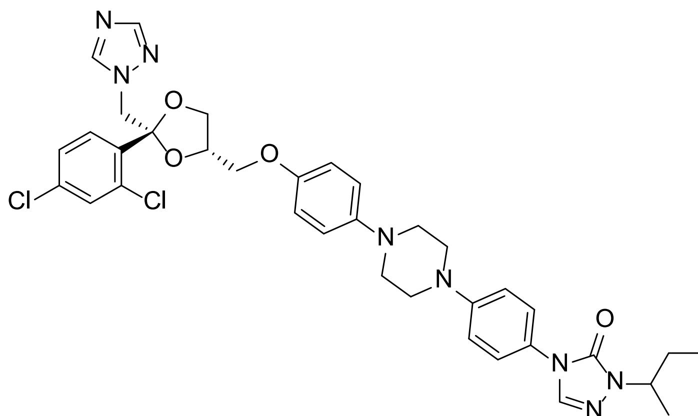


Hình 6.8. Các dẫn xuất của ketoconazole được tổng hợp từ KedA

3.1.4.3. Triazole thế hệ 1

Itraconazole

Về mặt cấu trúc, itraconazole có cấu trúc giống với ketoconazole nhưng vòng 1,2,4-triazole thay thế vòng imidazole (Hình 6.9). Thay đổi này không tạo ra nhiều khác biệt về tương tác với nhân heme của 14-α-demethylase nhưng làm tăng độ bền về mặt chuyển hóa và độ chọn lọc. Ngoài ra, phần nối dài trên nhánh B (*N*-1-alkyl-phenyltriazolone) giúp tăng cường các liên kết kỵ nước cũng như sự định hướng của phân tử itraconazole trong túi xúc tác của enzyme [12].



Hình 6.9. Itraconazole

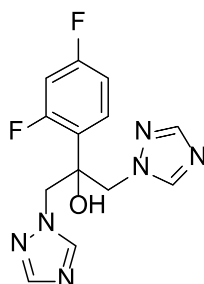
Itraconazole là hoạt chất đường uống đầu tiên có hoạt tính kháng *Aspergillus* spp. dùng trong điều trị các bệnh liên quan đến *Aspergillus* spp., nấm móng, *Histoplasma, Blastomyces* và bệnh trùng roi. Itraconazole có ít hiệu quả hơn fluconazole trong điều trị nhiễm *Cryptococcus.*

Itraconazole được sử dụng đường uống dưới dạng viên nang hoặc dung dịch uống, đường tiêm tĩnh mạch dưới dạng dung dịch tiêm truyền. Do đặc tính thân dầu nên các dạng dung dịch tiêm truyền phải có chất trợ tan hydroxypropyl beta-cyclodextrin.

Môi trường acid là cần thiết cho sự tan tối ưu và sư hấp thu đường uống của itraconazole. Do đó, các thuốc làm giảm pH dạ dày, như thuốc kháng histamine H2 và thuốc kháng acid (antacids), làm giảm sự hấp thu itraconazole. Thức ăn làm tăng hấp thu gần như gấp đôi của itraconazole. Cũng do tính thân dầu, thuốc có ái lực cao với protein huyết tương (> 99%) và hầu như bị chuyển hóa hoàn toàn tại gan [10].

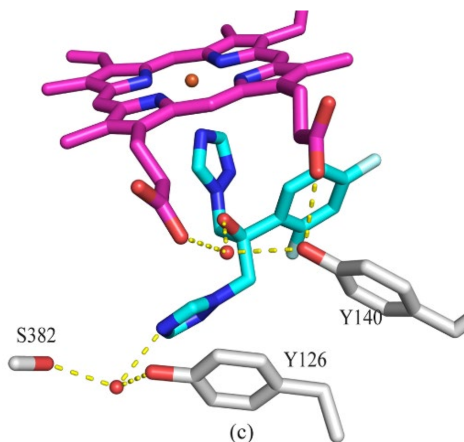
Fluconazole

Fluconazole có cấu trúc hóa học đơn giản hơn so với các thuốc nhóm azole khác. Phân tử này bao gồm 2 vòng triazole và 1 vòng difluorophenyl liên kết với nhau bằng 3 carbon (Hình 6.10).



Hình 6.10. Fluconazole

Cấu trúc tinh thể đồng kết tinh của fluconazole và 14-α-demethylase cho thấy nhóm -OH của fluconazole tạo liên kết hydro với (Y140) và nhóm propionate của heme qua trung gian một phân tử nước. Nguyên tử nitrogen của vòng triazole thứ hai tạo liên kết hydro với nhóm carbonyl của serine (S382) và nhóm hydroxyl của tyrosine (Y126) (Hình 6.11). Do vai trò quan trọng của amino acid Y140, vi sinh vật có thể đề kháng bằng cách đột biến điểm thay tyrosine Y140 thành phenylalanine hay histidine làm mất khả năng tạo liên kết hydro của fluconazole [12,13].



Hình 6.11. Cấu trúc tinh thể đồng kết tinh của của fluconazole và 14-α-demethylase tại túi xúc tác (PDB: 4WMZ)

Năm 1994, fluconazole đã được chấp thuận sử dụng dưới dạng một liều uống duy nhất để điều trị nhiễm nấm *Candida* âm đạo. Fluconazole có hiệu quả điều trị nhiễm nấm *Candida* hầu họng, thực quản và âm đạo, cũng như viêm phúc mạc. Thuốc cũng có tác dụng trên bệnh nhân tăng bạch cầu trung tính, nhiễm nấm *Candida* gan lách, nấm niệu và nhiễm trùng đường tiết niệu khu trú. Fluconazole cũng có hiệu quả trong nhiễm trùng

phổi hoặc nhiễm trùng do *Cryptococcus* lan tỏa, viêm màng não cấp do *Cryptococcus,* để điều trị duy trì suốt đời, dự phòng ban đầu cho nhiễm trùng *Cryptococcus,* trong điều trị viêm màng não do cầu trùng. Sau khi điều trị khởi phát với amphotericin B và flucytosine, sử dụng fluconazole để ức chế *Cryptococcus*. Nó được sử dụng rộng rãi để phòng ngừa và điều trị nhiễm nấm *Candida* ngoài da và xâm lấn.

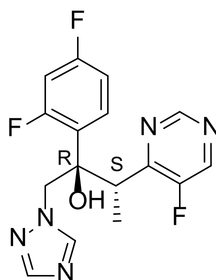
Sinh khả dụng của fluconazole cao hơn so với các thuốc azole khác, thuốc có khả năng hòa tan trong nước cao hơn và ái lực thấp với protein huyết tương (< 10%) [14]. Sự hấp thu thuốc không bị ảnh hưởng bởi độ acid trong đường tiêu hóa và sự có mặt của thức ăn. Fluconazole ít bị chuyển hóa bởi gan và bài tiết qua nước tiểu.

Fluconazole có dạng uống (viên nén, viên nang, hỗn dịch uống) và dạng dung dịch tiêm truyền tĩnh mạch. Fosfluconazole là một tiền dược của fluconazole, với nhóm -OH được thay bằng nhóm phosphate ($-OPO_3^{2-}$) giúp cải thiện độ tan.

3.1.4.4. Triazole thế hệ 2

Voriconazole

Voriconazole, được FDA chấp thuận năm 2002, là chất tương đồng được phát triển từ fluconazole nhằm cải thiện phổ kháng nấm của fluconazole. So với fluconazole, một trong hai vòng triazole được thay thế bằng vòng 5-fluoropyrimidine, đồng thời, một nhóm methyl được gắn thêm vào carbon liên kết với vòng này. Do đó, cấu trúc của voriconazole chứa 2 carbon bất đối. Thuốc chứa voriconazole chỉ bao gồm một đồng phân quang học (Hình 6.12).



Hình 6.12. Voriconazole

Sự thay thế vòng triazole bằng vòng pyrimidine giúp tăng độ tan trong nước của phân tử so với fluconazole. Sự thay đổi này về cấu trúc ở voriconazole cũng giúp tăng hoạt tính và mở rộng phổ trên những chủng *Candida* spp. đề kháng với fluconazole. Voriconazole có hoạt tính trên *Aspergillus* spp. còn fluconazole thì không [9].

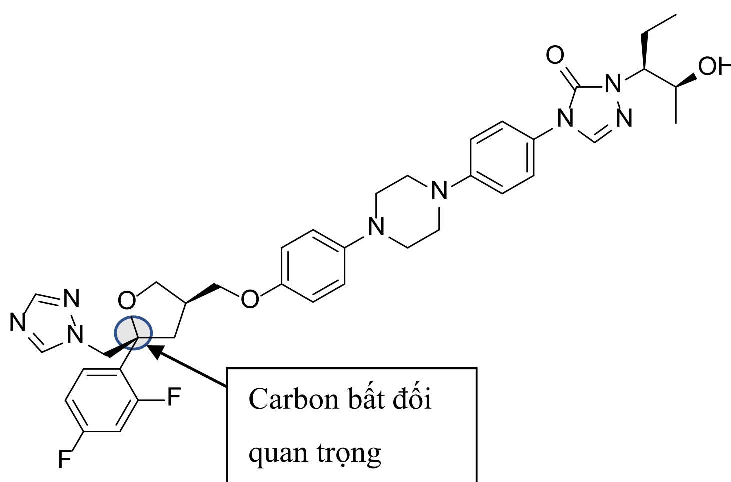
Bảng 6.1. So sánh hoạt tính trên một số chủng *Candida* của fluconazole và voriconazole [15]

	MIC_{90} (µg/mL)	
	Fluconazole	Voriconazole
C. albicans	2.0	0.06
C. parapsilosis	4.0	0.13
C. tropicalis	4.0	0.5
C. krusei	64.0	0.5
C. glabrata	64.0	2.0

Voriconazole là thuốc đầu tiên của nhóm triazole thế hệ thứ hai có khối lượng phân tử thấp (nhánh B ngắn) [16]. Nó có hoạt tính chống lại *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. và *Candida* spp. (bao gồm cả chủng kháng/ít nhạy với fluconazole). Nó cũng cho thấy hoạt động chống lại các bệnh nhiễm nấm *Fusarium* và *Scedosporium* khó điều trị.

Voriconazole đường uống được bào chế dưới dạng viên bao phim và bột pha hỗn dịch uống, ngoài ra còn có dạng bột pha tiêm với sulfobutylether beta-cyclodextrin sodium làm chất trợ tan.

Posaconazole



Hình 6.13. Posaconazole

Posaconazole là một triazole kháng nấm thế hệ thứ hai, có cấu trúc phân tử tương tự itraconazole. Sự thay thế nhóm -Cl bằng -F trên vòng phenyl, đồng thời thêm nhóm -OH trên nhóm thế alkyl của triazolone giúp mở rộng phổ kháng nấm và hoạt tính so với itraconazole (Bảng 6.2). Vị trí carbon bất đối quan trọng được đánh dấu trong Hình

6.13 nhằm hướng chính xác vòng triazole tạo tương tác với heme. Ngoài ra, phần còn lại của phân tử bao gồm nhiều vòng (phenyl, piperazine và triazole) tạo nên cấu trúc thẳng hàng, không linh động và mang tính định hướng cho phân tử bên trong túi xúc tác của 14-α-demethylase.

Bảng 6.2. So sánh hoạt tính trên một số chủng *Candida* và *Aspergillus* của itraconazole và posaconazole [15]

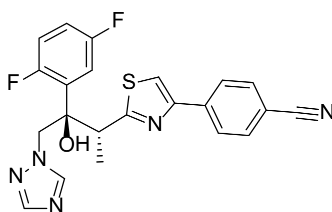
	MIC_{90} (µg/mL)	
	Itraconazole	Posaconazole
C. albicans	0.25	0.06
C. albicans kháng itraconazole	32.0	16.0
C. albicans kháng voriconazole	32.0	16.0
C. parapsilosis	0.5	0.25
C. tropicalis	0.5	0.25
C. glabrata	4.0	2.0
A. flavus	1.0	0.5
A. fumigatus	1.0	0.5
A. niger	2.0	0.5

Posaconazole đã được FDA chấp thuận vào năm 2006 để dự phòng chống lại nhiễm nấm *Aspergillus* và *Candida* xâm lấn. Nó có hoạt tính *in vitro* chống lại nhiều loại nấm gây bệnh, bao gồm *Aspergillus* spp., *Candida* spp. (kể cả các chủng đề kháng với fluconazole, voriconazole, itraconazole, amphotericin B), *Cryptococcus* spp. và *Histoplasma* spp.. Nó chống lại nhiễm trùng do zygomycetes gây ra tốt hơn voriconazole [17].

Posaconazole được bào chế dưới dạng hỗn dịch uống có sinh khả dụng thay đổi tùy thuộc vào liều, thức ăn và pH dạ dày. Sau đó, dạng viên phóng thích kéo dài (delayed release) được dùng để khắc phục nhược điểm của dạng hỗn dịch uống. Posaconazole còn có dạng dung dịch tiêm tĩnh mạch nhưng phải có sulfobutylether beta-cyclodextrin sodium làm chất trợ tan [18].

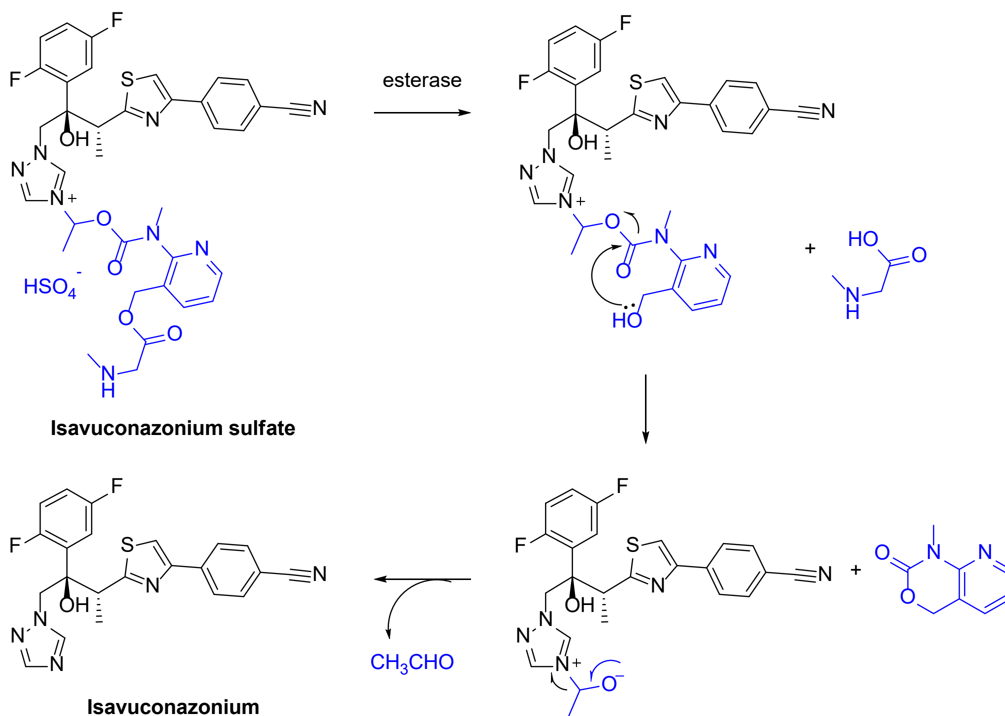
Isavuconazole

Isavuconazole dưới dạng tiền dược isavuconazonuim sulfate được FDA chấp thuận năm 2015, dùng trong điều trị nhiễm nấm *Aspergillus* xâm lấn và *Murcomycose* (nấm đen) xâm lấn. Thuốc có dạng viên nang và bột đông khô pha tiêm. Hiệu quả điều trị của isavuconazole tương đương với voriconazole và posaconazole, nhưng dường như có ít tác dụng phụ hơn [19].



Hình 6.14. Isavuconazole

Isavuconazonium sulfate là tiền dược tan trong nước của isavuconazole, chứa nhóm dễ dàng chuyển đổi thành isavuconazole bởi esterase trong máu. Các nhà khoa học quyết định tạo muối triazolium bằng cách thế trên N4 cấu trúc có nhóm chức ester được thủy phân bởi esterase, tạo ra sản phẩm có thể tự phân giải (self-immolative) thành isavuconazole theo cơ chế trong Hình 6.15. Phát triển tiền dược giúp giải quyết vấn đề thân dầu của các triazole trước (itraconazole, voriconazole, posaconazole) khi sử dụng đường tiêm mà không cần sử dụng chất trợ tan dẫn xuất beta-cyclodextrin, chất có bản chất là một polymer và có nguy cơ tích tụ trong cơ thể ở người suy thận [20,21].

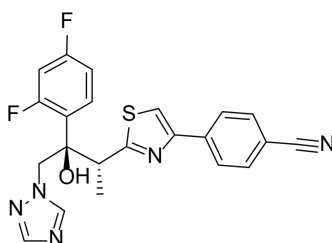


Hình 6.15. Cơ chế phóng thích isavuconazole từ isavuconazonium sulfate

Ravuconazole

Ravuconazole được cấp phép lưu hành tại Nhật Bản từ năm 2018 dưới dạng tiền dược fosravuconazole L-lysine ethanolate, dạng viên nang để điều trị bệnh nấm móng. Ravuconazole chỉ khác isavuconazole về vị trí gắn -F trên vòng phenyl (Hình 6.16).

Ravuconazole có hoạt tính cao chống lại nhiều loại nấm, bao gồm cả *Candida* spp. và *Aspergillus* spp., thậm chí cả các chủng phân lập ít nhạy/kháng fluconazole và itraconazole [22,23].



Hình 6.16. Ravuconazole

3.1.5. Kiểm nghiệm

- *Định tính:* sắc ký lớp mỏng, phổ IR, điểm chảy.

- *Định lượng:* hòa tan chế phẩm trong acetic acid khan, chuẩn độ bằng dung dịch perchloric acid. Xác định điểm tương đương bằng cách đo điện thế hoặc dùng chỉ thị naphtholbenzein.

3.1.6. Đặc tính dược động học của thuốc nhóm azole

Sự hấp thu:

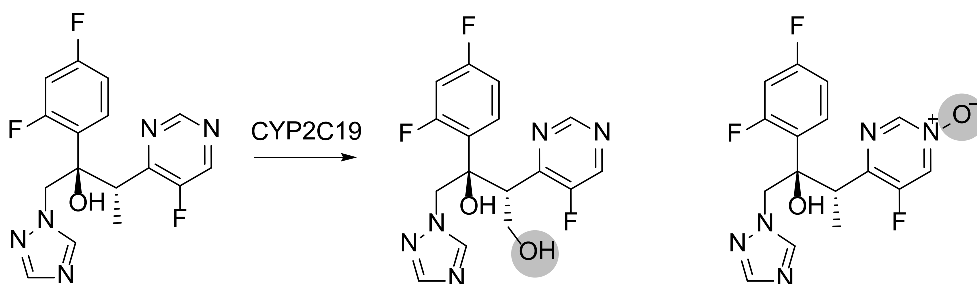
Hiện nay, tất cả các thuốc kháng nấm toàn thân nhóm triazole đều có sẵn dưới dạng thuốc uống và mỗi thuốc đều đạt được nồng độ thuốc trong huyết thanh phù hợp cho điều trị. Tuy nhiên, một số yếu tố về cấu trúc hóa học cũng như dạng bào chế có liên quan đến việc hấp thu thuốc tối ưu. Ví dụ: fluconazole có tính ưa nước cao nên dễ dàng hấp thu qua đường uống. Trong khi đó itraconazole có độ hấp thu qua đường uống biến thiên rất lớn. Dạng bào chế viên nang của thuốc này có sinh khả dụng rất thấp và phụ thuộc hoàn toàn vào nồng độ pH dạ dày.

Sự phân phối thuốc:

Sự phân phối thuốc đóng vai trò quan trọng trong điều trị nhiễm nấm xâm lấn, đặc biệt khi nhiễm trùng xảy ra ở một vị trí xa mà thuốc khó có thể xâm nhập. Tất cả các thuốc kháng nấm triazole đều được phân bố tốt khắp cơ thể. Tuy nhiên, tỉ lệ phần trăm của thuốc ở dạng tự do, có hoạt tính, lại phụ thuộc nhiều vào mức độ liên kết của từng loại thuốc với các protein trong huyết tương. Tỉ lệ này được ghi nhận ở mức thấp nhất là 10 - 12% đối với fluconazole và cao nhất vào khoảng hơn 98% đối với các thuốc itraconazole, posaconazole và isavuconazole.

Sự chuyển hóa và đào thải:

Tất cả các thuốc nhóm azole đường uống đều trải qua một số chuyển hóa ở gan. Fluconazole ít bị chuyển hóa nhất; hơn 80% thuốc này được đào thải qua đường nước tiểu ở dạng phân tử không biến đổi. Trong khi đó, voriconazole và itraconazole thường bị oxy hóa ở gan tạo thành các chất chuyển hóa không có hoạt tính. Quá trình chuyển hóa đối với posaconazole lại chủ yếu thông qua sự liên kết với một phân tử glucuronide. Nhóm methyl của voriconazole bị oxy hóa tạo thành hydroxymethyl hoặc nguyên tử nitrogen trong vòng pyrimidine cũng có thể bị oxy hóa hình thành nên *N*-oxide (Hình 6.17).



Hình 6.17. Sự chuyển hóa của voriconazole ở gan

3.1.7. Tác dụng phụ và độc tính

Các thuốc nhóm azole có khả năng dung nạp tốt. Tác dụng phụ chủ yếu được ghi nhận thông qua đường tiêu hóa như đau bụng, nôn, tiêu chảy. Ngoài ra, các bệnh nhân khi được điều trị với thuốc nhóm này được khuyến cáo theo dõi cẩn thận chức năng gan nhằm hạn chế đến mức thấp nhất khả năng phát sinh các tác dụng phụ không mong muốn đối với cơ quan quan trọng này. Tương tác thuốc là một vấn đề quan trọng, các thuốc nhóm azole đa phần là chất ức chế các enzyme CYP. Rất ít tác dụng phụ được ghi nhận ở bệnh nhân được điều trị bằng fluconazole. Sử dụng thuốc itraconazole liều cao (600 mg/ngày) có thể gây ra tác dụng phụ giống như aldosterone với các biểu hiện như tăng huyết áp, giảm kali trong máu. Trong khi đó, tác dụng không mong muốn do voriconazole gây ra lại khác các thuốc khác trong nhóm, như rối loạn thị giác và phát ban [24].

3.1.8. Ứng dụng trị liệu

Miconazole, clotrimazole: điều trị nấm da chân, nấm bẹn, lang ben, viêm âm hộ âm đạo do nấm *Candida,* nấm *Candida* ở miệng, đường tiêu hóa.

Ketoconazole: điều trị bệnh da do nấm sợi (skin dermatophyte infections), lang ben, viêm da tiết bã (seborrheic dermatitis) [25].

Fluconazole

- Điều trị nhiễm nấm *Candida* xâm lấn; điều trị kinh nghiệm khi nghi ngờ nhiễm nấm *Candida* xâm lấn; dự phòng nhiễm nấm *Candida* xâm lấn ở bệnh nhân giảm bạch

cầu trung tính kéo dài (bệnh nhân có bệnh máu ác tính điều trị hóa trị liệu hoặc bệnh nhân ghép tế bào gốc).

- Điều trị viêm màng não do *Cryptococcus;* dự phòng viêm màng não do *Cryptococcus* ở bệnh nhân có nguy cơ cao tái phát.

Itraconazole

- Điều trị nhiễm nấm toàn thân khi các chống nấm lựa chọn hàng đầu không hiệu quả hoặc có chống chỉ định bao gồm: *Histoplasma, Aspergillus, Candida* và *Cryptococcus*.

- Dự phòng nhiễm nấm ở bệnh nhân giảm bạch cầu trung tính kéo dài khi các thuốc chống nấm khác bị chống chỉ định.

Posaconazole

- Điều trị nhiễm nấm *Aspergillus* xâm lấn ở bệnh nhân kháng trị hoặc không dung nạp với amphotericin B hoặc itraconazole.

- Dự phòng nhiễm nấm xâm lấn ở bệnh nhân giảm bạch cầu trung tính kéo dài.

Voriconazole

- Điều trị nhiễm nấm *Aspergillus* xâm lấn (lựa chọn ưu tiên); điều trị kinh nghiệm khi nghi ngờ nhiễm *Aspergillus* xâm lấn.

- Điều trị *Candida* máu ở bệnh nhân không giảm bạch cầu trung tính.

- Điều trị nhiễm *Candida* xâm lấn (bao gồm cả *C. krusei*) ở bệnh nhân đề kháng với fluconazole.

- Dự phòng nhiễm nấm xâm lấn ở bệnh nhân ghép tế bào gốc có nguy cơ cao, ở bệnh máu ác tính điều trị hóa trị liệu có giảm bạch cầu trung tính kéo dài.

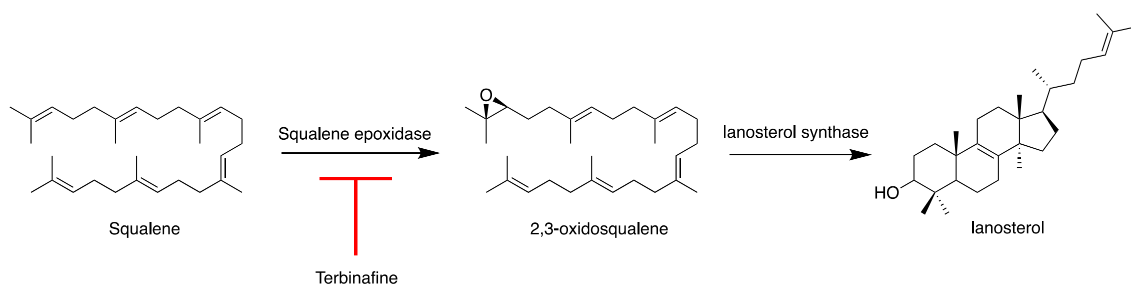
Isavuconazole

Điều trị nhiễm nấm *Aspergillus* xâm lấn [26].

3.2. Nhóm allylamine

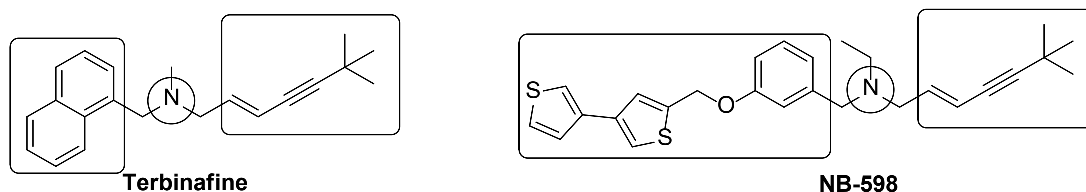
3.2.1. Cơ chế tác dụng

Squalene là một chất hữu cơ thuộc họ triterpene (Hình 6.18). Từ hợp chất này dưới tác dụng của enzyme squalene epoxidase sẽ tạo thành chất 2,3-oxidosqualene (còn gọi là squalene epoxide), tiền chất tạo thành lanosterol trong chuỗi phản ứng sinh tổng hợp ergosterol. Do vậy, ức chế hoạt động của squalene epoxidase được xem như một chiến lược quan trọng trong nghiên cứu thuốc điều trị nấm.



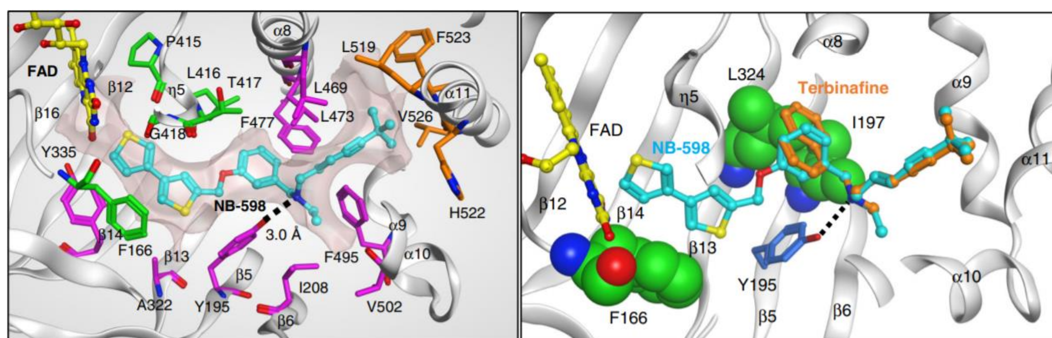
Hình 6.18. Sơ đồ sinh tổng hợp lanosterol và thuốc ức chế squalene epoxidase

Các thuốc ức chế squalene epoxidase đều có cấu trúc allylamine. Terbinafine là thuốc được đưa vào điều trị tại Mỹ từ tháng 05/1996. Terbinafine có hoạt tính *in vitro* tốt chống lại *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. và các loại nấm dạng sợi khác nhưng có hoạt tính khác nhau đối với nấm men. Terbinafine đã được chứng minh là có khả năng diệt nấm đối với các loài nấm da, *Sporothrix schenckii,* nấm lưỡng hình, *Scopulariopsis brevicaulis* và các loài *Herdersonula* và *Acremonium*.



Hình 6.19. Cấu trúc của terbinafine và chất NB-598. Vòng tròn đánh dấu vị trí tạo liên kết hydro, hình vuông là các phần tạo tương tác Van der Waals

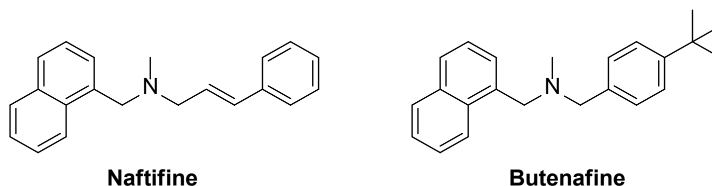
Một nghiên cứu được công bố gần đây cho thấy rõ đặc điểm cấu trúc quan trọng của một hợp chất dẫn xuất từ terbinafine, được gọi là chất NB-598 (Hình 6.19). Từ cấu trúc tinh thể của chất NB-598 trong túi xúc tác của squalene epoxidase, có thể giải thích sự khác biệt lớn về hoạt tính giữa 2 chất nêu trên (Hình 6.20).



Hình 6.20. (trái) Cấu trúc của chất NB-598 (màu xanh lơ); (phải) Sự chồng ảnh của terbinafine (màu cam) và chất NB-598 (màu xanh lơ) bên trong túi xúc tác của squalene epoxidase [27]

Trong phân tử NB-598 cũng như terbinafine, nguyên tử nitrogen đóng vai trò quan trọng, tạo nên liên kết hydro với amino acid tyrosine 195 (Y195). Mạch carbon của terbinafine tạo ra nhiều tương tác kỵ nước với túi xúc tác thông qua các amino acid như phenylalanine, leucine và valine. Ngoài ra, vòng phenyl cũng như 2 vòng thiophene của chất NB-598 tạo ra nhiều tương tác Van der Waals với túi xúc tác, từ đó làm tăng sự gắn kết giữa phân tử này với squalene epoxidase. Nhờ sự thay đổi này mà chất NB-598 có IC_{50} ở mức 63 nM, tốt hơn rất nhiều so với terbinafine là 7.7 μM [27].

Butenafine và naftifine cũng là thuốc kháng nấm có cấu trúc tương đồng và có cùng cơ chế tác động với terbinafine. Cả ba hoạt chất được sử dụng dạng muối hydrochloride.



Hình 6.21. Naftifine và butenafine

3.2.2. Kiểm nghiệm terbinafine hydrochloride

Terbinafine hydrochloride tan nhẹ trong nước, tan tốt trong ethanol và methanol, tan nhẹ trong acetone.

- *Định tính:* phổ IR, cho phản ứng của ion chloride.

- *Tạp chất liên quan:* phương pháp sắc ký lỏng.

- *Định lượng:* hòa tan chế phẩm trong ethanol 96%, chuẩn độ với dung dịch NaOH. Xác định điểm chuẩn độ bằng phương pháp đo điện thế.

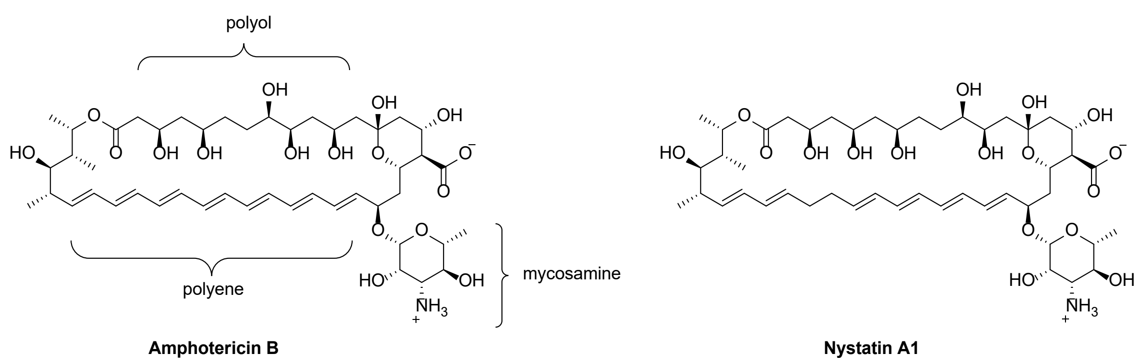
3.2.3. Ứng dụng trị liệu

Terbinafine hydrochloride sử dụng ngoài da dưới dạng kem hoặc thuốc xịt trị nấm da, đường uống dạng viên nén trong điều trị nấm móng tay, móng chân; dạng thuốc cốm dùng trị nấm da đầu ở trẻ em từ 4 tuổi trở lên [25] (https://www.drugs.com/mtm/terbinafine.html).

3.3. Nhóm polyene

3.3.1. Đặc điểm cấu trúc

Polyene macrolide hay gọi tắt là polyene là nhóm hợp chất tự nhiên có cấu trúc vòng macrolactone với 20-40 carbon và có từ 3-8 liên kết đôi. Hai thuốc tiêu biểu cho họ này là amphotericin B, sản xuất bởi *Streptomyces nodosus* và nystatin A1 (hay gọi tắt là nystatin), sản xuất bởi *Streptomyces noursei* (Hình 6.22). Hai hợp chất này đều có gắn một nhóm đường amine là mycosamine.

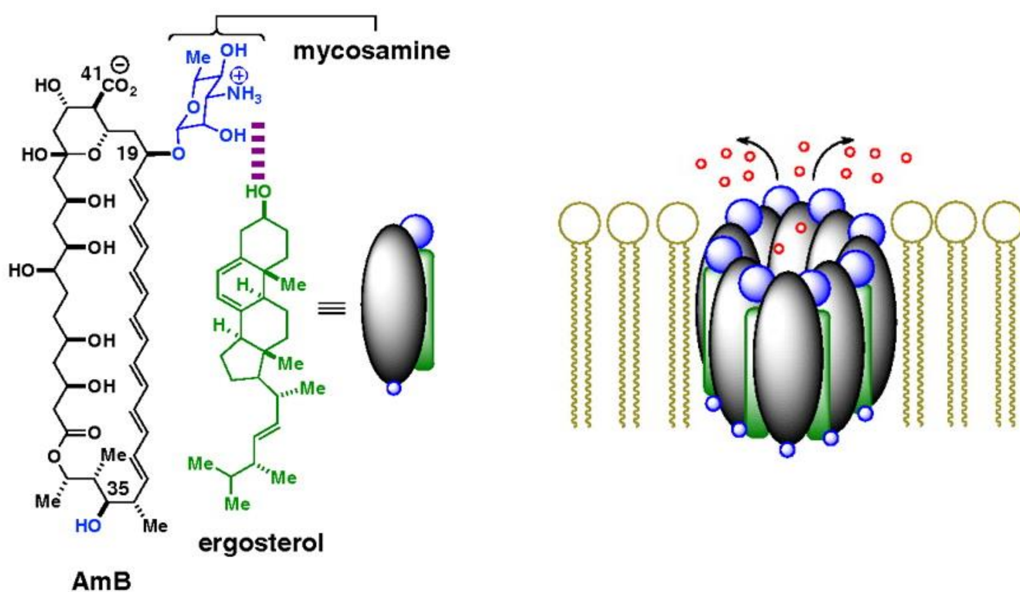


Hình 6.22. Cấu trúc của amphotericin B và nystatin

3.3.2. Cơ chế tác dụng

Nhóm polyene có khả năng tạo phức với ergosterol, từ đó tạo thành những lỗ hổng trên thành tế bào nấm, làm tăng quá trình thẩm thấu qua thành cũng như rò rỉ các chất bên trong môi trường nội bào làm chết tế bào nấm.

Trong cấu trúc của amphotericin B, phần polyol có tính ưa nước, hướng vào phía trong lỗ hổng, làm tăng quá trính thẩm thấu qua thành tế bào. Trong khi đó, phần polyene tạo ra liên kết Van der Waals với phân tử ergosterol của thành tế bào. Hai phân tử này còn tương tác với nhau thông qua liên kết hydro giữa nhóm -OH và -NH_2 của mycosamine và nhóm -OH trên ergosterol. Quá trình tạo nên lỗ hổng được mô phỏng như trong Hình 6.23, theo đó một lỗ hổng được cấu thành từ nhiều phức hợp amphotericin B-ergosterol [28].



Hình 6.23. Quá trình tạo thành lỗ hổng trên thành tế bào nấm của amphotericin B [28]

3.3.3. Tính chất lý hóa, dạng bào chế, bảo quản, sử dụng

Tên gọi của amphotericin B có nguồn gốc từ đặc tính amphoteric (lưỡng tính) do sự có mặt của nhóm carboxylic acid và nhóm amine. Hoạt chất có dạng bột màu vàng hoặc cam không tan/ít tan trong nước kể cả dạng muối. Amphotericin B và nystatin đều không hấp thu đường uống. Amphotericin B có thể dùng đường tiêm truyền và dùng ngoài. Nystatin chỉ dùng ngoài do có độc tính cao. Để sử dụng đường tiêm truyền tĩnh mạch, amphotericin B được bào chế thành các dạng:

- Dạng dung dịch keo trong nước (bột đông khô chứa amphotericin B và natri deoxycholate, hoàn nguyên với nước cất vô khuẩn tạo cấu trúc micelle).

- Dạng hệ phân tán keo (colloidal dispersion), kết hợp với natri deoxycholate và cholesteryl sulfate (Amphotericin B Cholesteryl Sulfate Complex). Bột đông khô khi hoàn nguyên trong nước tạo các tiểu phân (particles) có cấu trúc dạng đĩa.

- Dạng phức hợp lipid (Amphotericin B lipid complex): amphotericin B kết hợp với phospholipid tạo cấu trúc hình dải, bào chế dưới dạng bột pha tiêm.

- Dạng liposome: amphotericin B được tích hợp trong liposome có một lớp màng phospholipid kép, bào chế dưới dạng bột pha tiêm.

Tất cả các dạng được hoàn nguyên với nước cất vô khuẩn, pha loãng bằng dung dịch dextrose 5%. Không sử dụng dung dịch có muối vì sẽ phá vỡ cấu trúc của các tiểu phân. Dung dịch pha loãng nhạy cảm với ánh sáng, nhiệt độ nên cần sử dụng trong vòng 24 giờ, bảo quản trong tủ lạnh 2 - 8 ^{o}C, tránh ánh sáng.

Các dạng bào chế trên không giống nhau về dược động học, liều lượng sử dụng và tác dụng phụ - độc tính. Hai dạng kết hợp với lipid, đặc biệt là dạng liposome cho thấy nguy cơ độc tính trên thận thấp hơn và ít phản ứng tiêm truyền hơn. Ưu điểm này có thể do amphotericin B kết hợp với lipid sẽ ít tương tác với cholesterol trong màng tế bào gây độc tế bào. Hơn nữa, lipid đóng vai trò một lớp bảo vệ amphotericin B khỏi các enzyme phân hủy thuốc. Các nghiên cứu cho thấy các dạng kết hợp lipid làm cho thuốc được tích tụ ở các cơ quan thường bị nhiễm nấm xâm lấn như gan, tụy, phổi [10,29].

3.3.4. Kiểm nghiệm

- *Định tính:* phổ UV-Vis, phổ IR, sắc ký lỏng.

Hòa tan amphotericin B trong dimethyl sulfoxide, cho màu xanh dương đậm khi thêm phosphoric acid, chuyển thành màu vàng nhạt khi pha loãng với nước.

Cho nystatin vào dung dịch HCl cho màu nâu; vào dung dịch H_2SO_4 cho màu nâu chuyển dần sang màu tím.

- *Định lượng:* phương pháp vi sinh vật.

- *Tạp chất liên quan của Amphotericin B:* amphotericin A (28,29-dihydro-amphotericin B); amphotericin X1 (13-*O*-methyl amphotericin B); amphotericin X2 (13-*O*-ethyl amphotericin B) [30].

3.3.5. Ứng dụng trị liệu

Amphotericin B có phổ hoạt tính rộng chống lại nhiều loại nấm gây bệnh như *Candida* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Mucorales*, *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides* spp., *Cryptococcus neoformans, Histoplasma capsulatum* [25],…

Amphotericin B có chỉ định điều trị nhiễm nấm *Candida* hoặc *Aspergilus* xâm lấn nặng, đe dọa tính mạng; điều trị kinh nghiệm khi nghi ngờ nhiễm nấm *Candida* hoặc *Aspergilus* xâm lấn; dự phòng nhiễm nấm xâm lấn ở bệnh nhân giảm bạch cầu trung tính kéo dài (bệnh nhân có bệnh máu ác tính điều trị hóa trị liệu hoặc bệnh nhân ghép tế bào gốc) [26].

Amphotericin B còn có dạng kem dùng ngoài để trị nhiễm *C. albicans* da và da - niêm mạc. Dạng hỗn dịch uống dùng để trị nhiễm *Candida* hầu họng.

Nystatin được sử dụng như một chất chống nấm ngoài da, hiệu quả trong điều trị nhiễm nấm *Candida* da, da - niêm mạc, hầu họng, âm đạo.

3.3.6. Tác dụng phụ - độc tính

Các tác dụng phụ liên quan đến amphotericin B là phản ứng dị ứng liên quan đến tiêm truyền, phản ứng phản vệ - kiểu phản vệ, độc tính trên thận và hạ kali máu.

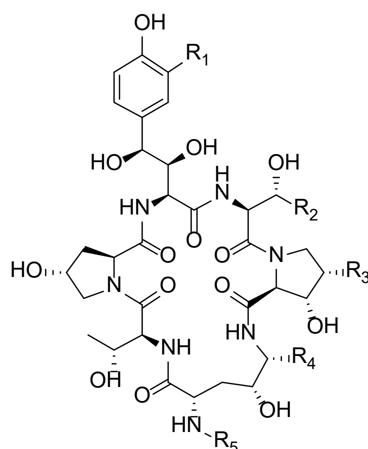
Phản ứng liên quan đến tiêm truyền và độc tính trên thận chủ yếu khi sử dụng amphotericin B deoxycholate. Độc tính trên thận do thuốc có thể gắn với cholesterol của tế bào người, mặc dù ái lực yếu hơn ergosterol của tế bào nấm.

3.4. Nhóm echinocandin

3.4.1. Đặc điểm cấu trúc

Thuốc nhóm echinocandin đang được sử dụng trên lâm sàng là ba hợp chất bán tổng hợp (caspofungin, micafungin, anidulafungin) có chung cấu trúc khung là một phân tử lipoprotein được tạo thành từ 6 amino acid đóng vòng gắn với một mạch nhánh kỵ nước (Bảng 6.3). Caspofungin được bán tổng hợp từ pneumocandin B có nguồn gốc từ *Glarea lozoyensis,* trong khi micafungin và anidulafungin là sản phẩm bán tổng hợp của tiền chất có nguồn gốc tương ứng từ nấm *Coleophoma empetri* F-11899 và *Aspergillus nidulans*. Do kích thước lớn, các echinocandin có sinh khả dụng thấp (< 10%) và do đó chỉ có thể đưa vào cơ thể qua đường tiêm tĩnh mạch. Caspofungin và micafungin có thể hòa tan trong nước do có các nhóm có thể tạo muối (caspofungin: nhóm NH_2, tạo caspofungin acetate; micafungin: nhóm -OSO_3H, tạo micafungin natri). Ngược lại, anidulafungin không hòa tan trong nước do không có nhóm tạo muối [31].

Bảng 6.3. Cấu trúc của các echinocandin



Tên	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5
Caspofungin	-H	-$(CH_2)_2$-NH_2	-H	-NH-$(CH_2)_2$-NH_2	O
Micafungin	-OSO_3H	O NH_2	-CH_3	-OH	O O N-O
Anidulafungin	-H	-CH_3	-CH_3	-OH	O O

3.4.2. Cơ chế tác dụng

β-(1,3)-D-Glucan là thành phần chính của thành tế bào của nhiều loại nấm, cùng với các thành phần khác của thành tế bào bao gồm β-(1,6)-D-glucan, chitin, galactomannan và các glycoprotein khác nhau.

Echinocandin phát huy tác dụng chống nấm bằng cách ức chế enzyme β-(1,3)-D-glucan synthase, dẫn đến giảm sự tổng hợp của β-(1,3)-D-glucan, làm mất tính toàn vẹn của thành tế bào và cuối cùng là ly giải tế bào [5].

3.4.3. Ứng dụng trị liệu

Các echinocandin có hoạt tính cao trên *Candida* spp. và *Aspergillus* spp., kể cả trên một số chủng kém nhạy/đề kháng với thuốc nhóm azole hay amphotericin B.

- Điều trị kinh nghiệm khi nghi ngờ nhiễm nấm *Candida* hoặc *Aspergillus* xâm lấn.

- Điều trị nhiễm nấm *Candida* xâm lấn.

- Điều trị nhiễm nấm *Aspergillus* xâm lấn ở bệnh nhân kháng trị hoặc không dung nạp với amphotericin B, amphotericin B phức hợp lipid và/hoặc các azole.

- Dự phòng nhiễm nấm xâm lấn ở bệnh nhân ghép tế bào gốc có bệnh ghép chống chủ; bệnh nhân giảm bạch cầu trung tính kéo dài [25].

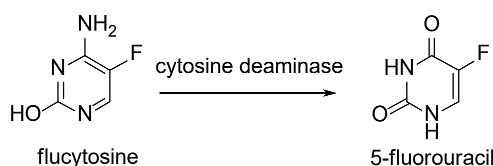
3.4.4. Tác dụng phụ - độc tính

So với các thuốc kháng nấm khác như nhóm azole và amphotericin B, các thuốc nhóm echinocandin tương đối an toàn, chủ yếu gây tác dụng phụ nhẹ như đau đầu, sốt, buồn nôn, viêm tĩnh mạch, nổi mẩn, tăng men gan (caspofungin); sốt, tiêu chảy, buồn nôn, nôn, giảm tiểu cầu, đau đầu (micafungin).

3.5. Flucytosine

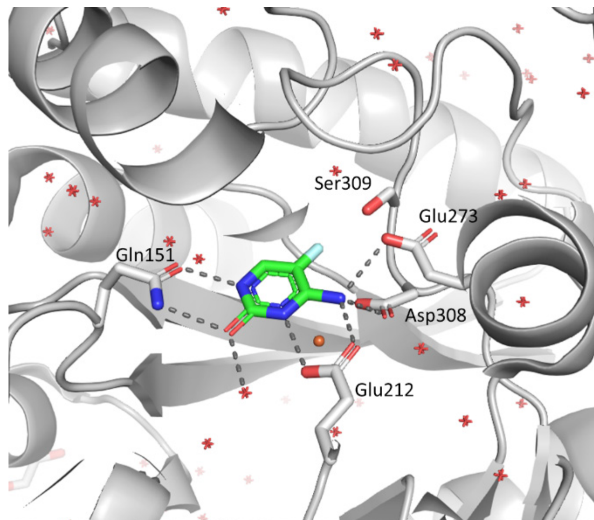
3.5.1. Cơ chế tác dụng

Flucytosine được phát triển với mục đích trở thành thuốc kháng ung thư. Tuy nhiên, trong thử nghiệm sàng lọc trên mô hình điều trị kháng nấm, phân tử này cho tác dụng tốt khi kết hợp với amphotericin B. Flucytosine về bản chất không có tác dụng kháng nấm. Tuy nhiên, khi được đưa vào tế bào nấm, phân tử này được biến đổi thành 5-fluorouracil dưới tác dụng của enzyme cytosine deaminase (Hình 6.24). Từ đây, 5-fluorouracil, sau vài biến đổi, sẽ ức chế quá trình tổng hợp DNA bên trong tế bào nấm (Xem thêm Chương về “Thuốc trị ung thư”). Flucytosine không ảnh hưởng đến tế bào người vì ở người không có cytosine deaminase, nên không thể chuyển hóa flucytosine thành 5-fluorouracil.



Hình 6.24. Sự tổng hợp 5-fluorouracil từ flucytosine

Trong Hình 6.25, phân tử flucytosine liên kết với túi xúc tác của cytosine deaminase thông qua các liên kết hydro quan trọng giữa nhóm $-NH_2$ với các mạch nhánh của các amino acid như Glu273, Glu212, Asp308, bên cạnh đó, nhóm -C=O và nguyên tử nitrogen trong vòng pyrimidine cũng tạo ra liên kết hydro với Glu151. Ngoài ra, nguyên tử fluor cũng có một khoảng cách đủ để tạo ra liên kết halogen với Ser309 mà không gây ra bất cứ lực đẩy nào. Vì thế, nguyên tử fluor được xem là chọn lọc hơn nếu so với các halogen khác có kích thước lớn hơn (khả năng gây ra lực đẩy cao).



Hình 6.25. Cấu trúc tinh thể của flucytosine trong túi xúc tác của cytosine deaminase (PDB 4R88)

3.5.2. Kiểm nghiệm

- *Định tính:*

+ Phổ IR, sắc ký lớp mỏng.

+ Đốt chế phẩm với magnesium oxide nặng đến khi thu được cắn màu trắng. Để nguội, thêm nước, dung dịch phenolphthalein và HCl loãng, dung dịch phải không màu. Lọc và thêm vào dịch lọc dung dịch alizarin S và dung dịch zirconyl nitrate. Màu của dung dịch chuyển từ đỏ sang vàng. Đây là phương pháp định tính ion fluoride. Alizarin S và ion zirconium tạo phức chất màu đỏ trong môi trường acid. Ion fluoride, do ái lực lớn hơn với ion zirconium, cạnh tranh tạo phức chất với zirconium và đẩy alizarin S ra (dạng tự do có màu vàng) [32].

+ Dung dịch chứa flucytosine bị oxy hóa bởi Br_2 và làm mất màu nước brom.

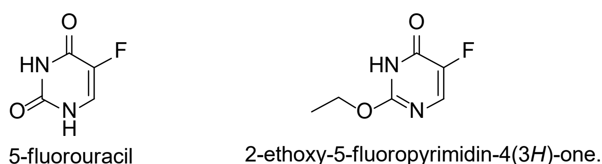
- *Kiểm tinh khiết:*

+ Độ trong, màu sắc của dung dịch, mất khối lượng do làm khô, tro sulfate.

+ Hàm lương fluoride (phương pháp đo điện thế).

+ Hàm lượng kim loại nặng.

+ Tạp chất liên quan (phương pháp sắc ký lỏng).



Hình 6.26. Tạp chất liên quan của flucytosine

- Định lượng:

Chuẩn độ môi trường khan trong acetic acid khan và acetic anhydride, chuẩn độ bằng dung dịch perchloric acid. Xác định điểm kết thúc chuẩn độ bằng phương pháp đo điện thế [30].

3.5.3. Ứng dụng trị liệu

Flucytosine có sinh khả dụng đường uống tốt, kết hợp với amphotericin B (hoặc fluconazole) trong điều trị:

- Điều nhiễm nấm *Candida* máu, màng tim hoặc tiết niệu khi đã thất bại với các chống nấm lựa chọn đầu tay hoặc không dung nạp với các thuốc này.

- Điều trị nhiễm nấm *Cryptococcus* thần kinh trung ương hoặc phổi [25].

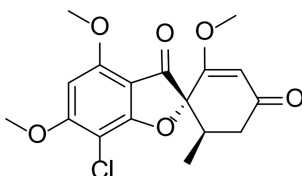
3.5.4. Tác dụng phụ - độc tính

Tác dụng phụ của flucytosine được cho là do sự chuyển hóa một lượng nhỏ thuốc thành 5-fluorouracil bởi vi sinh vật đường ruột, gây đau bụng, tiêu chảy, buồn nôn, nôn, ức chế tủy xương, giảm bạch cầu, giảm tiểu cầu,…

3.6. Griseofulvin

3.6.1. Cấu trúc

Griseofulvin là hợp chất tự nhiên sản xuất bởi nấm *Penicillium griseofulvum.* Hoạt chất có cấu trúc benzofuran-3-one nối với vòng thứ 3 kiểu spiro (Hình 6.27).



Hình 6.27. Griseofulvin

3.6.2. Cơ chế tác dụng

Griseofulvin được cho là có cơ chế tác dụng thông qua sự ức chế hình thành microtubule và thoi phân bào, gây cản trở quá trình phân chia của tế bào nấm. Griseofulvin còn có khả năng kháng ung thư.

3.6.3. Ứng dụng trị liệu

Griseofulvin là thuốc kháng nấm dùng đường uống. Do thuốc có tính thân dầu, không tan trong nước, dùng chung với thức ăn nhiều dầu mỡ làm tăng độ hấp thu thuốc. Các dạng bào chế vi hạt (microsize), siêu vi hạt (ultramicrosize) giúp tăng độ hấp thu thuốc.

Griseofulvin tích lũy ở các tế bào tiền thân keratin (keratin precursor cells), gắn với keratin và ngăn nấm xâm lấn vào phần móng, tóc mới sản sinh. Vì vậy phải sử dụng thuốc cho đến khi phần da, móng, tóc bị nhiễm nấm được thay thế hoàn toàn. Thuốc phân bố đến lớp sừng của da trong vòng 4 - 8 giờ sau khi uống.

Griseofulvin kìm hãm sự phát triển của nhiều loài nấm da (dermatophytes) như *Microsporum, Epidermophyton và Trichophyton.* Thuốc được chỉ định điều trị các bệnh nấm da, tóc, móng do các loài nấm nêu trên gây ra.

3.6.4. Tác dụng phụ - độc tính

Thường ở mức nhẹ như đau đầu, rối loạn tiêu hóa, mẫn cảm ánh sáng,… Do griseofulvin gây cảm ứng men gan nên tương tác thuốc với warfarin, thuốc tránh thai,… và làm tăng tác dụng của rượu [24].

3.6.5. Kiểm nghiệm

- Độc tính bất thường: thử nghiệm trên chuột.

- Định tính:

+ Phổ IR.

+ Hòa tan chế phẩm trong sulfuric acid, thêm kali dichromate xuất hiện màu đỏ thẫm.

- Kiểm tinh khiết:

+ Độ trong và màu sắc của dung dịch trong dimethylformamide.

+ Độ acid.

+ Năng suất quay cực.

+ Tạp chất liên quan (phương pháp sắc ký khí).

- Định lượng: phương pháp đo độ hấp thu ở bước sóng 291 nm của dung dịch chế phẩm trong ethanol tuyệt đối [30].

Câu hỏi tự lượng giá

1. Nêu tên phân tử có vai trò quan trọng trong cấu tạo thành tế bào nấm mà không tồn tại ở tế bào người?
2. Nêu đặc điểm chung về cấu trúc của các thuốc họ azole?
3. Trong cấu trúc của amphotericin B, phần nào có tính hướng nước, phần nào có tính kỵ nước? Phần nào trong phân tử này tạo ra tương tác với ergosterol và bằng dạng liên kết nào?

Tài liệu tham khảo

1. Dutcher JD. The discovery and development of amphotericin B. Dis Chest. 1968; 54(1):296-298.
2. Vermes A, Guchelaar HJ, Dankert J. Flucytosine: A review of its pharmacology, clinical indications, pharmacokinetics, toxicity and drug interactions. J Antimicrob Chemother. 2000; 46(2):171-179.
3. Wood AJJ, Como JA, Dismukes WE. Oral Azole Drugs as Systemic Antifungal Therapy. N Engl J Med. 1994; 330(4):263-272.
4. Spellberg B, Walsh TJ, Kontoyiannis DP, Edwards JJ, Ibrahim AS. Recent advances in the management of mucormycosis: from bench to bedside. Clin Infect Dis. 2009; 48(12):1743-1751.
5. Denning DW. Echinocandin antifungal drugs. Lancet. 2003; 362(9390):1142-1151.
6. González GM, Fothergill AW, Sutton DA, Rinaldi MG, Loebenberg D. In vitro activities of new and established triazoles against opportunistic filamentous and dimorphic fungi. Med Mycol. 2005; 43(3):281-284.
7. Kathiravan MK, Salake AB, Chothe AS, Dudhe PB, Watode RP, Mukta MS, et al. The biology and chemistry of antifungal agents: A review. Bioorganic Med Chem. 2012; 20(19):5678-5698.
8. Strushkevich N, Usanov SA, Park HW. Structural basis of human CYP51 inhibition by antifungal azoles. J Mol Biol. 2010; 397(4):1067-1078.
9. Shafiei M, Peyton L, Hashemzadeh M, Foroumadi A. History of the development of antifungal azoles: A review on structures, SAR, and mechanism of action. Bioorg Chem. 2020; 104(July):104240.
10. Beale JM. Anti-infective agents. In: Troy DB, editor. Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry. 12th ed. Baltimore; 2011. pp.1022.

11. de Almeida RFM, Santos FC, Marycz K, Alicka M, Krasowska A, Suchodolski J, et al. New diphenylphosphane derivatives of ketoconazole are promising antifungal agents. Sci Rep. 2019; 9(1):1-14.
12. Agnello S, Brand M, Chellat MF, Gazzola S, Riedl R. A Structural View on Medicinal Chemistry Strategies against Drug Resistance. Angew Chemie-Int Ed. 2019; 58(11):3300-3345.
13. Sagatova AA, Keniya M V., Wilson RK, Monk BC, Tyndall JDA. Structural insights into binding of the antifungal drug fluconazole to Saccharomyces cerevisiae lanosterol 14α-demethylase. Antimicrob Agents Chemother. 2015; 59(8):4982-4989.
14. Liu J, Lu G, Yang H, Yan Z, Wang Y, Wang P. Bioconcentration and metabolism of ketoconazole and effects on multi-biomarkers in crucian carp (Carassius auratus). Chemosphere. 2016; 150:145-151.
15. Sabatelli F, Patel R, Mann PA, Mendrick CA, Norris CC, Hare R, et al. In vitro activities of posaconazole, fluconazole, itraconazole, voriconazole, and amphotericin B against a large collection of clinically important molds and yeasts. Antimicrob Agents Chemother. 2006; 50(6):2009-2015.
16. Greer ND. Voriconazole: The Newest Triazole Antifungal Agent. Baylor Univ Med Cent Proc. 2003; 16(2):241-248.
17. Wong TY, Loo YS, Veettil SK, Wong PS, Divya G, Ching SM, et al. Efficacy and safety of posaconazole for the prevention of invasive fungal infections in immunocompromised patients: a systematic review with meta-analysis and trial sequential analysis. Sci Rep. 2020; 10(1):1-11.
18. Moore JN, Healy JR, Kraft WK. Pharmacologic and clinical evaluation of posaconazole. Expert Rev Clin Pharmacol. 2015; 8(3):321-334.
19. Van Matre ET, Evans SL, Mueller SW, MacLaren R, Fish DN, Kiser TH. Comparative evaluation of isavuconazonium sulfate, voriconazole, and posaconazole for the management of invasive fungal infections in an academic medical center. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2019; 18(1):1-7.
20. Ohwada J, Tsukazaki M, Hayase T, Oikawa N, Isshiki Y, Fukuda H, et al. Design, synthesis and antifungal activity of a novel water soluble prodrug of antifungal triazole. Bioorganic Med Chem Lett. 2003; 13(2):191-196.
21. Yasu T, Konuma T, Kuroda S, Takahashi S, Tojo A. Effect of cumulative intravenous voriconazole dose on renal function in hematological patients. Antimicrob Agents Chemother. 2018; 62(9):4-7.
22. Minassian B, Huczko E, Washo T, Bonner D, Fung-Tomc J. In vitro activity of ravuconazole against Zygomycetes, Scedosporium and Fusarium isolates. Clin Microbiol Infect. 2003; 9(12):1250-1252.

23. Hata K, Kimura J, Miki H, Toyosawa T, Nakamura T, Katsu K. In vitro and in vivo antifungal activities of ER-30346, a novel oral triazole with a broad antifungal spectrum. Antimicrob Agents Chemother. 1996 Oct; 40(10):2237-2242.

24. Nett JE, Andes DR. Antifungal Agents: Spectrum of Activity, Pharmacology, and Clinical Indications. Infect Dis Clin North Am. 2016; 30(1):51-83.

25. Rogers PD, Krysan DJ. Antifungal Agents. In: Brunton LL, Hilal-Dandan R, Knollmann BC, editors. Goodman&Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 13th ed. United States: McGraw-Hill Education; 2018.

26. Bộ Y tế . Quyết định về việc ban hành tài liệu chuyên môn "Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị nhiễm nấm xâm lấn". Hà Nội; 2021.

27. Padyana AK, Gross S, Jin L, Cianchetta G, Narayanaswamy R, Wang F, et al. Structure and inhibition mechanism of the catalytic domain of human squalene epoxidase. Nat Commun. 2019; 10(1):1-10.

28. Gray KC, Palacios DS, Dailey I, Endo MM, Uno BE, Wilcock BC, et al. Amphotericin primarily kills yeast by simply binding ergosterol. Proc Natl Acad Sci U S A. 2012; 109(7):2234-2239.

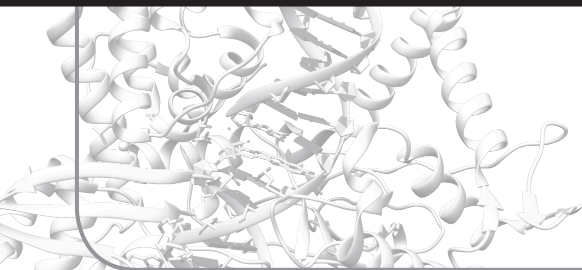
29. Hamill RJ. Amphotericin B formulations: A comparative review of efficacy and toxicity. Drugs. 2013; 73(9):919-934.

30. British Pharmacopoeia 2020. 9th ed. London: The Stationery Office; 2019. pp. 6276.

31. Wagner C, Graninger W, Presterl E, Joukhadar C. The echinocandins: Comparison of their pharmacokinetics, pharmacodynamics and clinical applications. Pharmacology. 2006; 78(4):161-177.

32. Meyling AH, Meyling J. A modified zirconium-alizarin method for determining fluoride in natural waters. Analyst. 1963; 88(1043):84.

Chương 7



THUỐC KHÁNG VIRUS

Lâm Bảo Vy - Huỳnh Thị Ngọc Phương

Các hoạt chất được đề cập

Thuốc can thiệp vào kênh ion

Amantadine	Rimantadine

Thuốc ức chế sự xâm nhập của virus vào tế bào chủ

Enfuvirtide	Fostemsavir
Maraviroc	Ibalizumab

Thuốc ức chế DNA polymerase tương đồng nucleoside không vòng

Acyclovir	Ganciclovir	Penciclovir
Valaciclovir	Valganciclovir	Famciclovir

Thuốc ức chế DNA polymerase tương đồng nucleoside mạch vòng

Idoxuridine	Brivudine	Telbivudine
Trifluridine	Vidarabine	Entecavir

Thuốc ức chế DNA polymerase tương đồng nucleotide

Cidofovir	Tenofovir diisoproxil fumarate
Adefovir dipivoxil	Tenofovir alafenamide

Thuốc ức chế DNA polymerase không tương đồng nucleoside

Foscarnet

Thuốc ức chế enzyme phiên mã ngược tương đồng nucleoside (NRTI)

Zidovudine	Lamivudine	Abacavir
Stavudine	Emtricitabine	
Zalcitabine	Didanosine	

Thuốc ức chế enzyme phiên mã ngược không tương đồng nucleoside (NNRTI)

Nevirapine	Efavirenz	Rilpivirine
Delavirdine	Etravirine	Doravirine

Thuốc ức chế NS5A virus HCV

Daclatasvir	Velpatasvir	Ombitasvir
Ledipasvir	Elbasvir	Pibrentasvir

Thuốc ức chế polymerase NS5B virus HCV tương đồng nucleoside

Mericitabine	Sofosbuvir

Thuốc ức chế polymerase NS5B virus HCV không tương đồng nucleoside

Dasabuvir	Beclabuvir

Thuốc ức chế RNA polymerase

Ribavirin	Remdesivir
Favipiravir	Molnupiravir

Thuốc ức chế endonuclease virus cúm

Baloxavir marboxil

Thuốc ức chế enzyme integrase virus HIV

Raltegravir	Dolutegravir	Bictegravir
Elvitegravir	Cabotegravir	

Thuốc ức chế protease virus HIV

Saquinavir	Amprenavir	Tipranavir
Ritonavir	Fosamprenavir	Danuravir
Indinavir	Lopinavir	Cobicistat
Nelfinavir	Atazanavir	(pharmacoenhancer)

Thuốc ức chế protease virus HCV

Telaprevir	Simeprevir	Glecaprevir
Boceprevir	Paritaprevir	Voxilaprevir
Asunaprevir	Grazoprevir	

Thuốc ức chế protease SAR-CoV-2
Nirmatrelvir

Thuốc ức chế enzyme neuramidase virus cúm

Zanamivir	Laninamivir
Oseltamivir	Peramivir

Interferon
Tilorone

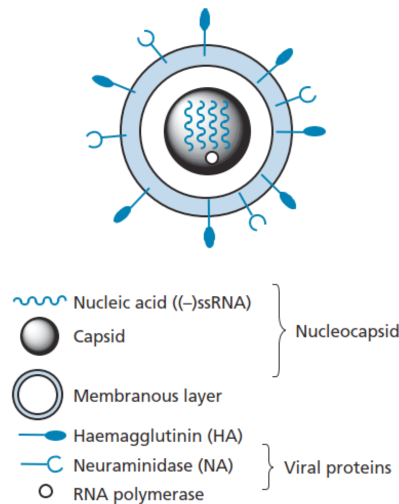
1. VIRUS VÀ BỆNH DO VIRUS

Trong các tác nhân truyền nhiễm ở người, virus là tác nhân có kích thước nhỏ nhất (chỉ sau prion) với đường kính khoảng từ 20 nm đến 300 nm. Chúng chứa một loại nucleic acid, RNA hoặc DNA, mã hóa cho nhiều loại enzyme và các protein khác sử dụng trong quá trình sao chép và lây nhiễm. Để tồn tại và sinh sản, virus phải xâm nhập vào một tế bào sống (vi khuẩn, thực vật hay động vật). Khi gắn vào tế bào chủ, virus xâm nhập vào tế bào, sử dụng các nguồn lực và quá trình sinh hóa của tế bào chủ để sao chép. Trong một số trường hợp, virus phản ứng với các điều kiện bên ngoài và thoát khỏi phản ứng miễn dịch bằng cách tích hợp vào DNA vật chủ, thể hiện khả năng đáp ứng với các kích thích bên ngoài. Mặc dù là sinh vật đơn giản, virus là tác nhân gây nhiều bệnh đáng kể ở người và là một trong những thách thức lớn trong lĩnh vực nghiên cứu thuốc. Cho đến nay, vẫn chưa có loại thuốc nào thực sự có thể chữa khỏi bệnh do nhiễm virus. Ngoài ra, virus có thể trải qua các đột biến, do đó có khả năng phát triển sự đề kháng với các liệu pháp hiện có. Vì vậy, việc khám phá các tác nhân kháng virus mới vẫn là một nỗ lực quan trọng trong hóa dược [1].

1.1. Cấu trúc và vòng đời của virus

Tiểu đơn vị cơ bản nhất của virus là bộ gen, có thể cấu tạo từ một hoặc nhiều phân tử RNA hoặc DNA. Do đó, chúng có thể được xếp loại là virus RNA hoặc DNA. Hầu hết các virus RNA chứa RNA sợi đơn (single-stranded RNA - ssRNA), nhưng một số chứa RNA sợi đôi (double-stranded RNA-dsRNA). Nếu trình tự các base của sợi RNA giống với mRNA của virus thì nó được gọi là sợi dương (+), còn nếu là trình tự bổ sung thì nó được gọi là sợi âm (-). Tương tự, virus có thể chứa DNA sợi đôi (double-stranded DNA-dsDNA), hay DNA sợi đơn (single-stranded-ssDNA). Nucleic acid của virus được bảo vệ trong một lớp vỏ protein gọi là capsid, thường được cấu tạo từ các tiểu đơn vị protein gọi là protomer. Tổ hợp nucleic acid và capsid của virus được gọi là nucleocapsid. Ở một số virus, nucleocapsid có thể chứa các enzyme quan trọng trong quá trình sao chép của virus. Trong những trường hợp khác, cấu trúc nucleocapsid có thể được bao quanh bởi

một màng bên ngoài chứa lipid và carbohydrate. Cấu trúc virus hoàn chỉnh được gọi là virion (Hình 7.1) [2].



Hình 7.1. Sơ đồ cấu trúc của virus cúm [2]

Các giai đoạn khác nhau trong vòng đời của virus bao gồm:

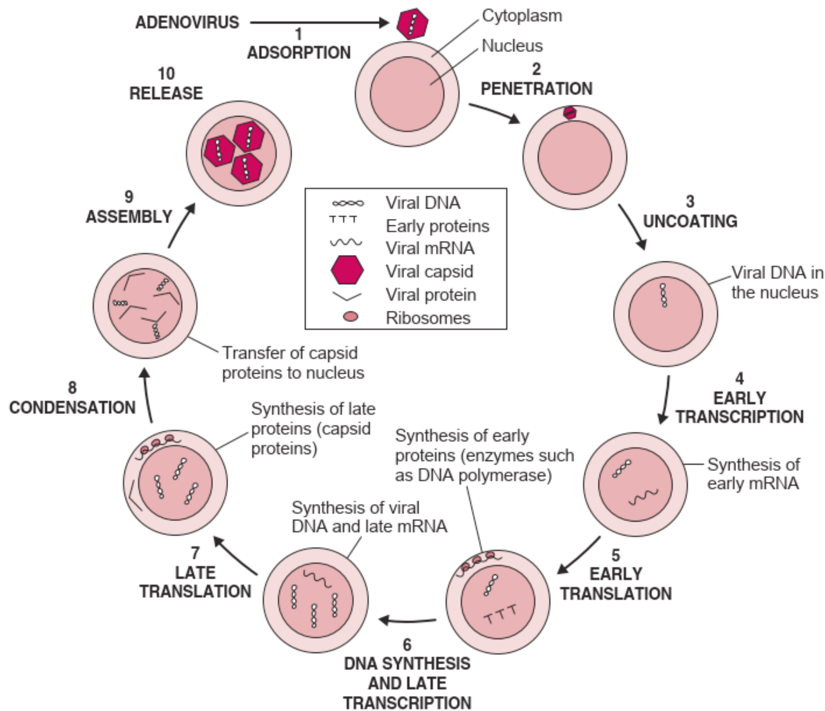
- Hấp phụ: trước tiên virion phải gắn kết với bề mặt bên ngoài của tế bào chủ thông qua liên kết giữa một phân tử nhất định trên bề mặt của virion với một protein hoặc carbohydrate trên màng tế bào chủ, được gọi là "thụ thể". Các phân tử này thường là glycoprotein có chức năng quan trọng với tế bào chủ, ví dụ như để gắn kết với hormone. Tuy nhiên, virion lợi dụng những cấu trúc này để gắn kết và sau đó đưa vật liệu di truyền vào tế bào chủ.

- Xâm nhập và lột vỏ: các virus khác nhau đưa nucleic acid vào tế bào chủ bằng nhiều cách khác nhau. Một số bơm nucleic acid của chúng qua màng tế bào, một số khác lại xâm nhập hoàn toàn vào tế bào chủ và sau đó loại bỏ lớp vỏ capsid (lột vỏ). Điều này cũng có thể diễn ra theo nhiều cách: lớp vỏ của một số virion có thể hợp nhất với màng tế bào chủ và sau đó nucleocapsid được đưa vào tế bào, trong khi các virion khác có thể xâm nhập vào tế bào chủ thông qua quá trình nhập bào (endocytosis). Bất kể bởi quá trình nào, kết quả cuối cùng là giải phóng acid nucleic của virus vào tế bào chủ.

- Sao chép và phiên mã: gen của virus có thể được miêu tả là "sớm" hay "muộn". Các gen "sớm" chiếm quyền kiểm soát của tế bào chủ để tổng hợp DNA và/hoặc RNA của virus. Cơ chế liên quan đến quá trình này khác nhau giữa các loại virus.

- Tổng hợp và lắp ráp nucleocapsid: các gen muộn điều khiển sự tổng hợp các protein capsid và các protein này tự lắp ráp để tạo thành capsid. Sau đó, acid nucleic của virus được đưa vào capsid để tạo thành nucleocapsid.

- Giải phóng virion: các virion trần (không có lớp vỏ bên ngoài bao quanh nucleocapsid) được giải phóng bằng cách ly giải tế bào. Ngược lại, các virus có vỏ bọc bên ngoài được giải phóng bởi một quá trình được gọi là "nảy chồi" (budding). Đầu tiên các protein của virus kết hợp vào màng tế bào chủ. Sau đó nucleocapsid gắn lên bề mặt bên trong màng tế bào và đồng thời, protein của virus tập hợp lại tại vị trí này và protein của tế bào chủ bị loại bỏ. Phần màng chứa protein của virus này sau đó sẽ bao quanh nucleocapsid và giải phóng virion ra khỏi tế bào chủ.



Hình 7.2. Các giai đoạn trong vòng đời của virus [1]

1.2. Bệnh do virus ở người

Nói chung, có thể coi các triệu chứng của nhiễm virus là kết quả từ phản ứng của tế bào chủ với sự nhân lên của virus và từ những tổn thương ở tế bào chủ. Các phản ứng này có thể từ không có triệu chứng hoặc triệu chứng cận lâm sàng đến các biểu hiện lâm sàng nghiêm trọng, và có thể là tại chỗ hoặc toàn thân. Cơ chế bệnh sinh diễn ra trong nhiều giai đoạn khác nhau: sự xâm nhập của virus vào vật chủ và sự nhân lên ban đầu của virus, sự lây lan của virus, tổn thương tế bào và phản ứng miễn dịch của vật chủ, sự thanh thải virus hoặc hình thành nhiễm trùng dai dẳng và sự giải phóng virus khỏi tế bào chủ.

Hầu hết virus xâm nhập vào vật chủ qua đường hô hấp hoặc đường tiêu hóa, nhưng cũng có thể xâm nhập qua da, đường tiết niệu sinh dục hoặc kết mạc. Trong một số trường hợp, các phần tử virus có thể xâm nhập qua đường tiêm trực tiếp hoặc qua vết cắn của

động vật. Khi nhiễm trùng tại chỗ xảy ra, virus nhân lên gần vị trí xâm nhập và lớp mô bên dưới không bị ảnh hưởng. Tuy nhiên, một số virus có thể di chuyển đến các vị trí khác, thường là qua đường máu hoặc hệ bạch huyết, gây ra nhiễm trùng toàn thân. Bệnh lâm sàng phát triển thông qua một loạt các sự kiện phức tạp khi các tế bào nhiễm virus bị phá hủy hoặc chức năng của chúng bị suy giảm, và một số triệu chứng có thể là kết quả từ các phản ứng của vật chủ như sự giải phóng cytokine. Tổn thương do bệnh có thể trở nên mạn tính khi liên quan đến các tế bào không thể tái tạo (ví dụ như mô não). Cuối cùng, vật chủ hoặc không thể chống lại nhiễm trùng, hoặc phát triển nhiễm trùng mạn tính, tiềm ẩn hay cận lâm sàng, hoặc hồi phục hoàn toàn.

Trong nhiễm trùng mạn tính, có thể vẫn tìm thấy virus ở mức độ thấp, và có thể có triệu chứng lâm sàng nhẹ hoặc không có triệu chứng. Ngược lại, nhiễm trùng tiềm ẩn là trường hợp virus tồn tại trong thời gian dài ở dạng không hoạt động hoặc ở vị trí không tiếp xúc với phản ứng miễn dịch của vật chủ. Các đợt bộc phát gián đoạn bệnh lâm sàng có thể xảy ra, trong thời gian đó có thể phát hiện virus lây nhiễm. Nhiễm trùng cận lâm sàng là bệnh không có dấu hiệu rõ ràng về sự hiện diện của virus.

Bảng 7.1. Đặc điểm các virus chính gây bệnh ở người [1]

Họ	Ví dụ	Bộ gen	Bệnh gây ra
Parvoviridae	Parvovirus B19	ssDNA (+/-)	Ban đỏ nhiễm trùng (bệnh thứ năm), viêm đa khớp, thiếu máu
Papillomaviridae	Virus papilloma ở người (HPV), virus polyoma, SV 40	dsDNA	Mụn cóc, nhiễm trùng tuyến nước bọt, bệnh não chất trắng đa ổ (multifocal leukoencephalopathy), ung thư (cổ tử cung)
Adenoviridae	Nhiều loại	dsDNA	Nhiễm trùng mắt và đường hô hấp, ung thư
Hepadnaviridae	Hepadnavirus, virus viêm gan B (HBV)	dsDNA	Viêm gan B, ung thư
Herpesviridae	Herpes simplex I và II (HSV), varicella zoster (VZV), herpes zoster, cytomegalovirus (CMV), virus Epstein-Barr (EBV)	dsDNA	Nhiễm trùng mắt, da, sinh dục, thủy đậu, bệnh zona, tăng bạch cầu đơn nhân, ung thư
Poxviridae	Variola, vaccinia	dsDNA	Đậu mùa, đậu bò, thủy đậu, ung thư

Họ	Ví dụ	Bộ gen	Bệnh gây ra
Picornaviridae	Virus viêm gan A (HAV), virus bại liệt, enterovirus, rhinovirus, virus coxsackie A và B	ssRNA (+)	Bệnh đường hô hấp, bệnh đường tiêu hóa, bại liệt, viêm màng não vô khuẩn
Astroviridae	Astrovirus	ssRNA (+)	Tiêu chảy ở trẻ sơ sinh và bệnh nhân suy giảm miễn dịch
Caliciviridae	Virus Norwalk	ssRNA (+)	Viêm dạ dày ruột
Togaviridae	Virus rubella, alphavirus, arbovirus	ssRNA (+)	Bệnh sởi Đức (rubella)
Flaviviridae	Virus viêm gan C (HCV), arbovirus, virus sốt vàng da, virus sốt xuất huyết, virus West Nile	ssRNA (+)	Viêm gan C, sốt vàng da, sốt xuất huyết, viêm não, ung thư
Coronaviridae	Coronavirus	ssRNA (+)	Cảm lạnh, viêm dạ dày ruột ở trẻ sơ sinh, hội chứng hô hấp cấp tính nặng (SARS), COVID-19
Retroviridae	HIV I và II, lentivirus, virus T-lymphotropic gây bệnh ở người (HTLV)	ssRNA	AIDS, phức hợp cận AIDS (ARC), ung thư vú, bệnh u bạch cầu lympho T (human T-cell leukemia), ung thư biểu mô vòm họng
Arenaviridae	Arenavirus	ssRNA (-)	Sốt Lassa, sốt xuất huyết do virus, viêm màng não
Orthomyxoviridae	Virus cúm A, B, C	ssRNA (-)	Bệnh cúm
Bunyaviridae	Hantavirus	ssRNA (-)	Sốt xuất huyết
Rhabdoviridae	Rhabdovirus, virus bệnh dại, virus viêm não	ssRNA (-)	Bệnh dại, viêm não
Paramyxoviridae	Virus hợp bào, virus parainfluenza (HPIV)	ssRNA (-)	Quai bị, bệnh sởi
Filoviridae	Virus Marburg, virus Ebola	ssRNA (-)	Sốt xuất huyết Marburg, sốt xuất huyết Ebola
Reoviridae	Reovirus, rotavirus, orbivirus	dsRNA	Nhiễm trùng nhẹ đường hô hấp và tiêu hóa, sốt do ve Colorado (Colorado tick fever)

2. GIỚI THIỆU CHUNG HÓA TRỊ LIỆU KHÁNG VIRUS

Thuốc kháng virus có thể mang lại lợi ích trong việc kiểm soát bệnh do virus gây ra khi không có vaccine hiệu quả hay khi đã xảy ra nhiễm trùng. Tuy nhiên, nhiều yếu tố khiến cho việc thiết kế các tác nhân kháng virus hiệu quả trở nên khó khăn, bao gồm khả năng đột biến của virus, giai đoạn tiềm ẩn không có triệu chứng và việc virus sử dụng các cơ chế sinh hóa của chính tế bào chủ để sinh sản và lây nhiễm. Mục tiêu tác động tiềm năng cho tác nhân kháng virus là các protein của virus có thể mang các đặc điểm sau:

- Quan trọng đối với vòng đời của virus nên sự ức chế hoặc can thiệp lên protein này sẽ ảnh hưởng lớn đến khả năng lây nhiễm.

- Ít điểm tương đồng với protein người, do đó tăng tính chọn lọc và giảm thiểu tác dụng phụ.

- Phổ biến ở nhiều loại virus khác nhau và chứa một vùng riêng biệt với thành phần amino acid tương đồng. Điều này tạo cơ hội phát triển thuốc có hoạt tính kháng virus phổ rộng.

- Quan trọng trong giai đoạn đầu của vòng đời virus, do đó sự can thiệp/ức chế sẽ làm giảm nguy cơ xuất hiện các triệu chứng và sự lây lan của virus.

Các thuốc kháng virus được sử dụng hiện nay can thiệp vào các giai đoạn quan trọng trong vòng đời virus (Hình 7.3), nằm trong các cơ chế chính sau:

- Tác nhân gây gián đoạn sự gắn kết của virus với các thụ thể, sự xâm nhập hoặc lột vỏ của virus.

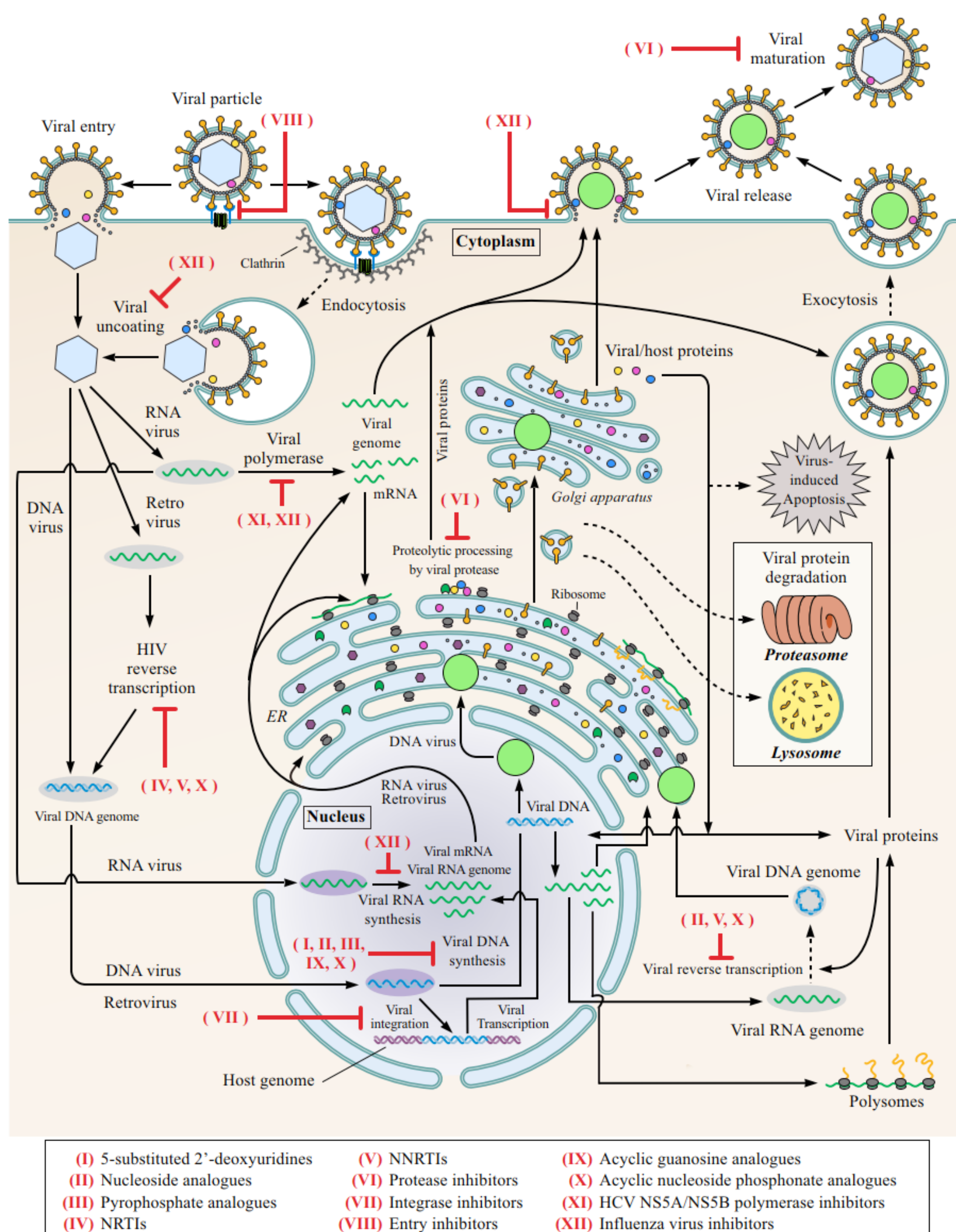
- Tác nhân ức chế các enzyme liên quan đến virus như DNA polymerase.

- Tác nhân ức chế phiên mã hoặc dịch mã của virus.

- Tác nhân can thiệp vào các protein điều hòa của virus.

- Tác nhân cản trở quá trình lắp ráp protein của virus.

- Tác nhân ngăn chặn việc giải phóng virus từ màng tế bào chủ.



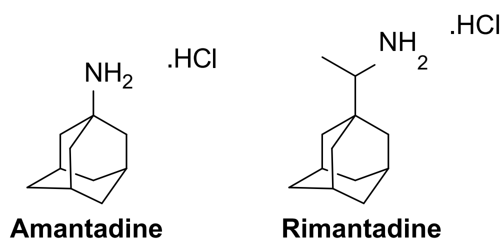
Hình 7.3. Cơ chế tác dụng của thuốc liên quan đến vòng đời của virus. (I) Chất tương tự 2'-deoxyuridine với nhóm thế ở vị trí 5, (II) Thuốc tương tự nucleoside, (III) Thuốc tương tự pyrophosphate, (IV) Thuốc ức chế enzyme phiên mã ngược loại nucleoside (NRTI), (V) Thuốc ức chế enzyme phiên mã ngược loại không nucleoside (NNRTI), (VI) Thuốc ức chế protease, (VII) Thuốc ức chế integrase, (VIII) Thuốc ức chế sự xâm nhập, (IX) Thuốc tương tự guanosine mạch hở, (X) Thuốc tương tự nucleoside phosphonate mạch hở, (XI) Thuốc ức chế polymerase HCV NS5A/NS5B, (XII) Thuốc ức chế virus cúm [3].

Các thuốc kháng virus đề cập trong các phần dưới đây được xếp vào 6 nhóm chính phụ thuộc vào cơ chế tác dụng và cấu trúc của thuốc.

3. THUỐC ỨC CHẾ SỰ XÂM NHẬP VÀ LỘT VỎ CỦA VIRUS (Agents inhibiting virus penetration and uncoating)

3.1. Thuốc can thiệp vào kênh ion (Ion channel disrupters)

Thuốc trong nhóm này bao gồm amantadine (được FDA phê duyệt năm 1966) và rimantadine (được FDA phê duyệt năm 1993) (Hình 7.4), thuộc nhóm cấu trúc các adamantane, là các chất ức chế sự lột vỏ của virus cúm A (không có hoạt tính trên virus cúm B và C).



Hình 7.4. Thuốc can thiệp vào kênh ion

3.1.1. Tính chất

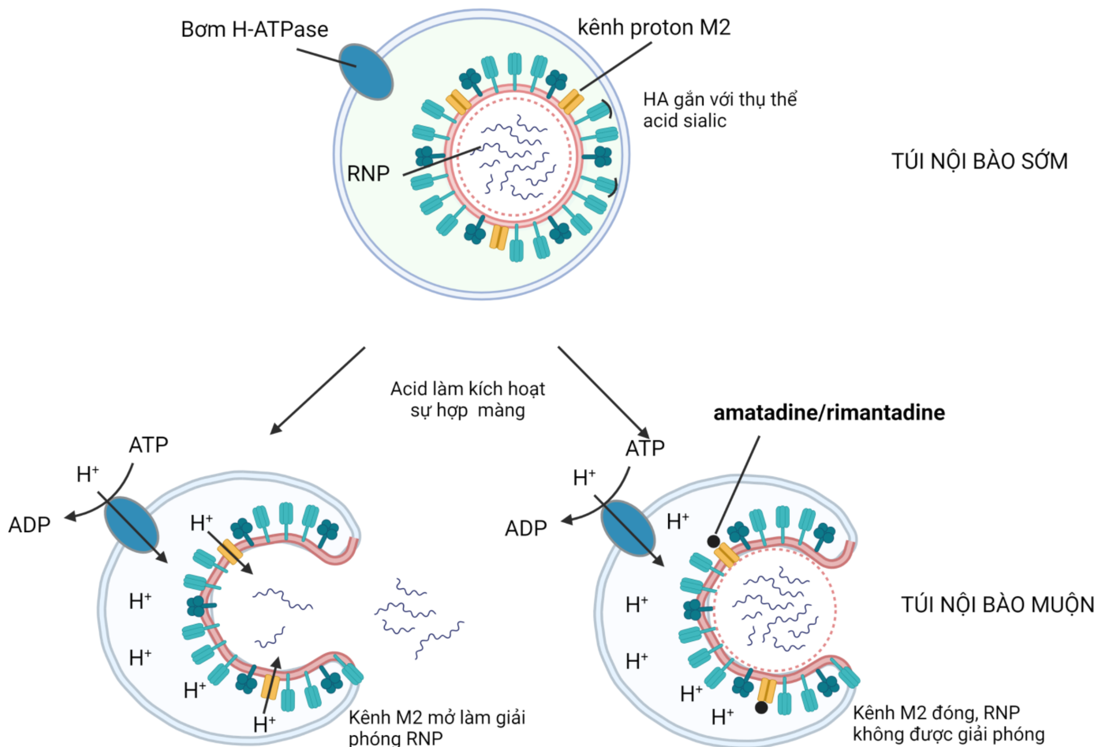
- Amantadine hydrochloride: bột kết tinh màu trắng, tan trong nước, cồn và chloroform.

- Rimantadine hydrochloride: bột kết tinh màu trắng ngà, tan trong nước (50 mg/mL ở 20 ºC).

3.1.2. Cơ chế tác dụng - Phổ kháng virus - Sự đề kháng

Virus cúm xâm nhập vào tế bào vật chủ bằng quá trình nhập bào qua trung gian thụ thể và được chứa trong túi nội bào sớm (early endosome). Các túi nội bào này chứa bơm H-ATPase giúp acid hóa túi nội bào bằng cách bơm proton từ dịch tế bào chủ vào túi nội bào. Sự thay đổi cấu dạng của protein hemagglutinin (HA) trên lớp vỏ virus khi độ pH thấp dẫn đến sự hợp nhất giữa màng virus và màng của túi nội bào. Tuy nhiên, chỉ riêng sự hợp màng này không đủ để virus lột vỏ. Các proton từ túi nội bào cần được đưa vào bên trong virus thông qua kênh proton M2 trên lớp vỏ virus, hoạt động phụ thuộc vào độ pH, dẫn đến sự phân ly protein nền (matrix protein), giải phóng ribonucleoprotein (RNP) và như vậy giải phóng vật liệu di truyền của virus vào trong tế bào chủ. Amantadine và rimantadine chặn kênh proton M2, do đó ức chế quá trình acid hóa bên trong virion và sự lột vỏ của virus (Hình 7.5) [4].

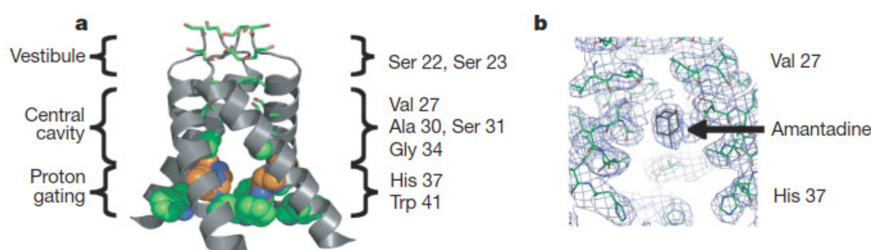
Amantadine và rimantadine có hoạt tính lâm sàng trên các chủng virus cúm A (ví dụ: H1N1, H2N2, H3N2). Tuy nhiên, sự đề kháng các dẫn chất adamantane phát triển nhanh chóng và các virus kháng thuốc vẫn giữ được khả năng sao chép gần như hoàn toàn cũng như khả năng gây bệnh. Các chủng virus đề kháng chứa các đột biến điểm trong cấu trúc kênh M2 như L26F, V27A, A30T, S31N và G34E có thể liên quan đến sự đề kháng adamantane [5,6,7]. Thật vậy, thuốc thuộc nhóm này không còn được khuyến cáo hoặc sử dụng ở Mỹ do tỷ lệ kháng thuốc cao.



Hình 7.5. Quá trình lột vỏ của virus cúm và tác dụng của amantadine và rimantadine [4] (hình được vẽ bởi Biorender.com)

3.1.3. Quan hệ cấu trúc - tác dụng

Cấu trúc đồng kết tinh giữa kênh M2 và amantadine trong môi trường pH thấp cho thấy vị trí liên kết của thuốc bên trong kênh ion ở gần đầu N của protein, bao quanh bởi các amino acid Val 27, Ala 30, Ser 31 và Gly 34, với nhóm thế amine hướng về amino acid His 37. Sự gắn kết của thuốc như một vật cản chẹn kênh ion và có thể ảnh hưởng đến pK_a của His 37, đơn vị quan trọng trong chức năng đóng mở kênh ion (Hình 7.6). Mô hình gắn kết này có thể giải thích cho sự đề kháng amadantane trên các chủng virus chứa đột biến điểm tại các vị trí 27, 30, 31 và 34 tìm thấy trên lâm sàng [8].



Hình 7.6. Vị trí gắn kết của amantadine bên trong kênh M2 [8]

3.1.4. Ứng dụng trong trị liệu

Dự phòng và điều trị các dấu hiệu và triệu chứng nhiễm virus cúm A.

3.1.5. Dạng bào chế

Dạng muối HCl tan trong nước (viên nén và sirô), dùng đường uống.

3.1.6. Dược động học

- Amantadine: chủ yếu bài tiết dưới dạng không chuyển hóa trong nước tiểu cùng với một lượng nhỏ dẫn xuất *N*-acetyl hóa.

- Rimantadine: được chuyển hóa chủ yếu ở gan, và khoảng 90% được thải trừ qua nước tiểu trong vòng 24 giờ. Các chất chuyển hóa chính trong nước tiểu là các dẫn xuất hydroxyl hóa vòng và một tỷ lệ nhỏ glucuronide hóa.

3.1.7. Tác dụng phụ

Thuốc trong nhóm có thể gây các tác dụng phụ trên hệ thần kinh trung ương (CNS) như lo lắng, lú lẫn, nhức đầu, buồn ngủ, mất ngủ, trầm cảm và ảo giác, có thể liên quan đến tác dụng của thuốc trên một số thụ thể thần kinh trung ương ở người. Tác dụng không mong muốn của amantadine trên các thụ thể ở người này có thể giải thích cho ứng dụng điều trị khác của thuốc trong bệnh Parkinson [4].

3.1.8. Kiểm nghiệm

Amantadine hydrochloride.

Định tính:

- Phổ hấp thụ hồng ngoại (IR).

- Phản ứng tạo amide với anhydride acetic.

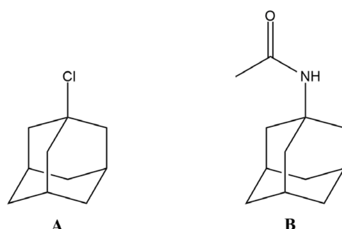
- Phản ứng của nhóm amine bậc I với nitrous acid (HNO_2 tạo ra từ $NaNO_2$ và HCl):



$$RNH_2 + HNO_2 \rightarrow ROH + N_2 + H_2O$$

Định lượng: chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxide 0.1 M. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế.

Tạp chất liên quan: adamantane (nguyên liệu đầu trong tổng hợp amantadine), tạp A và B.



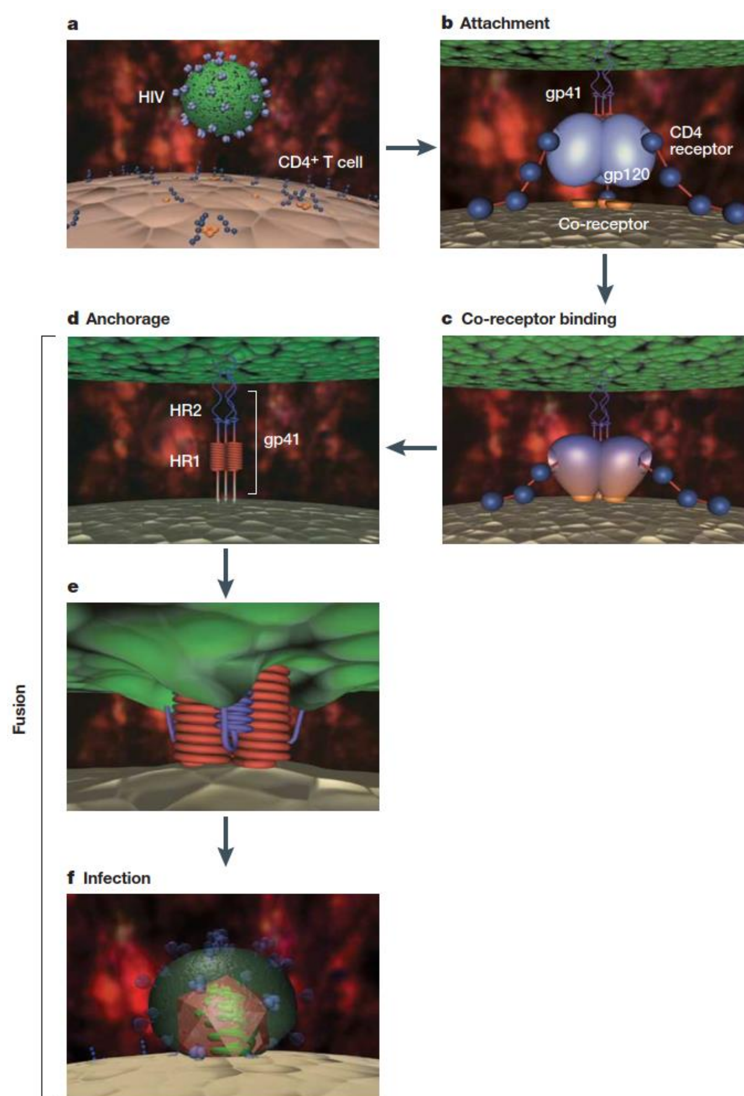
3.2. Thuốc ức chế sự xâm nhập của virus vào tế bào chủ (Entry inhibitors)

Virus cần phải xâm nhập vào tế bào vật chủ để sao chép. Do đó ức chế giai đoạn đầu của quá trình gắn kết và xâm nhập của virus có thể mang lại một biện pháp "phòng ngừa" chống lại sự lây nhiễm. Đồng thời, thuốc tác động vào giai đoạn này không cần phải đi vào tế bào, điều này có thể là một lợi thế. Thuốc trong nhóm được phê duyệt đến nay bao gồm enfuvirtide (T20), maraviroc và fostemsavir với các mục tiêu tác động và đặc điểm cấu trúc riêng biệt, sử dụng trong điều trị HIV.

Một số kháng thể đơn dòng cũng có thể ngăn chặn sự hòa lẫn màng của virus vào tế bào chủ, được chấp thuận làm thuốc kháng virus, gồm: ibalizumab (điều trị HIV); ansuvimab và kết hợp atoltivimab-maftivimab-odesivimab (điều trị virus Ebola).

3.2.1. Quá trình hợp màng của virus HIV với tế bào chủ (HIV fusion)

Sự xâm nhập của HIV diễn ra qua trung gian các glycoprotein nằm trên lớp vỏ virus: gp120 và gp41, sắp xếp trên lớp vỏ virus như một trimer hợp thành từ ba tiểu đơn vị gp41 gắn không đồng hóa trị với ba tiểu đơn vị gp120 (Hình 7.7). Sự hợp màng của virus với tế bào chủ diễn ra thông qua một loạt các thay đổi về cấu dạng của gp120 và gp41. Đầu tiên, gp120 liên kết với thụ thể CD4 trên bề mặt tế bào lympho, làm bộc lộ một vị trí liên kết thứ hai trên gp120 với đồng thụ thể chemokine CXCR4 và CCR5 trên màng tế bào chủ, dẫn đến gắn kết giữa gp120 với một trong hai hoặc với cả hai thụ thể này. Liên kết giữa gp120 với CD4 và các thụ thể chemokine tạo ra những thay đổi làm kích hoạt cấu dạng hợp màng của gp41. Tiểu đơn vị gp41 chứa một số vùng chức năng quan trọng trong quá trình này như hai vùng lặp lại heptad: HR1 (gần đầu N) và HR2 (gần đầu C) và vùng peptide dung hợp kỵ nước (FP). Vùng FP xuyên vào màng tế bào chủ trong khi vùng HR1 tạo một cấu trúc cuộn xoắn và sau đó vùng HR2 gấp lại xen kẽ với các cấu trúc xoắn của HR1 tạo thành một bó xoắn sáu đơn vị ổn định (cấu trúc kẹp tóc), kéo màng virus và màng tế bào chủ lại gần nhau để dung hợp [9].



Hình 7.7. Quá trình xâm nhập của HIV thông qua sự hợp màng [9]

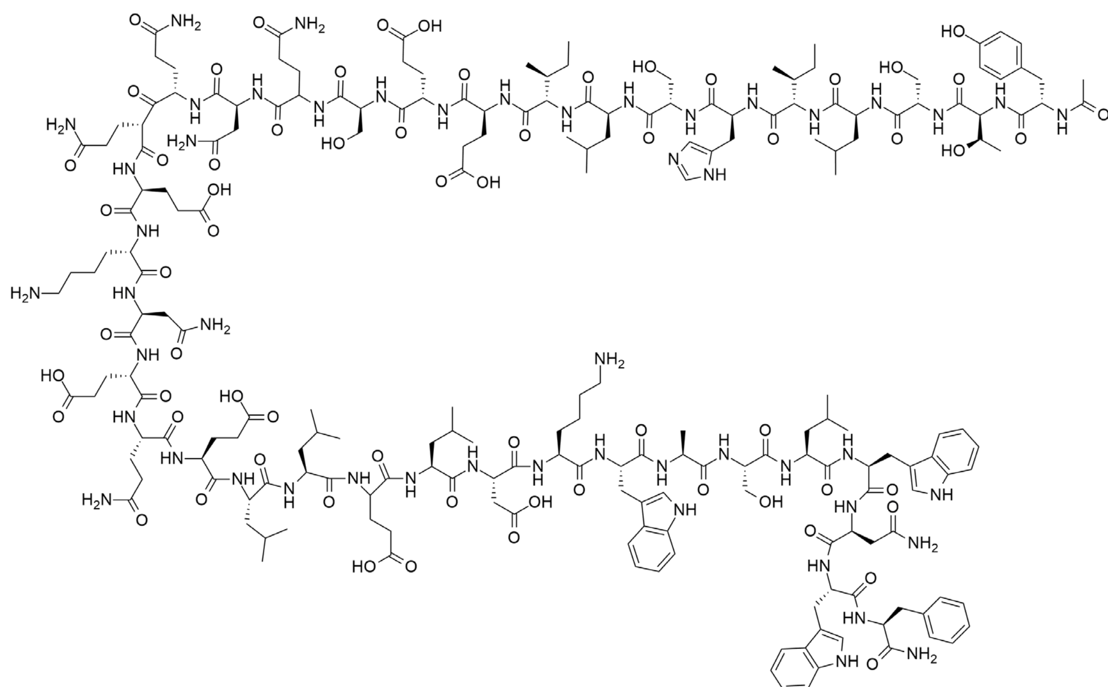
3.2.2. Cấu trúc - Tính chất

- Enfuvirtide: peptide tổng hợp mạch thẳng gồm 36 amino acid L với đầu N được acetyl hóa và đầu C là một carboxamide (Hình 7.8). Là chất rắn vô định hình màu trắng đến trắng ngà. Tan không đáng kể trong nước với độ hòa tan tăng lên trong dung dịch đệm (pH 7.5) đến 85 - 142 g/100 mL.

- Maraviroc: thuộc nhóm cấu trúc alkaloid nhân tropane. Bột màu trắng đến màu nhạt, tan nhiều trong vùng pH sinh lý (pH 1.0 đến 7.5).

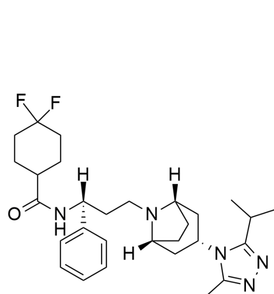
- Fostemsavir: là tiền dược phosphonooxymethyl của hoạt chất temsavir, thuộc nhóm cấu trúc các dẫn chất 6-azaindole glyoxamide (Hình 7.8). Fostemsavir tromethamine (chế

phẩm trên thị trường) là chất rắn màu trắng, độ tan trong nước với pH trên 3.7 lớn hơn 250 mg/mL.

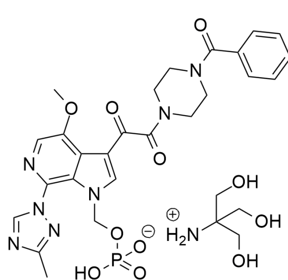


N-acetyl-Tyr-Thr-Ser-Leu-Ile-His-Ser-Leu-Ile-Glu-Glu-Ser-Gln-Asn-Gln-Gln-Glu-Lys-Asn-Glu-Gln-Glu-Leu-Leu-Glu-Leu-Asp-Lys-Try-Ala-Ser-Leu-Try-Asn-Try-Phe-NH_2

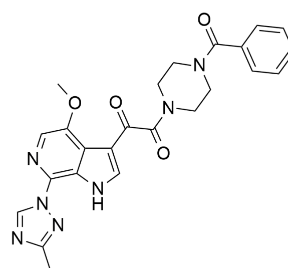
Enfuvirtide



Maraviroc



Fosemtavir tromethamine



Temsavir

Hình 7.8. Thuốc ức chế sự gắn kết và xâm nhập của virus

3.2.3. Cơ chế tác dụng - Phổ kháng virus - Sự đề kháng

Enfuvirtide

Enfuvirtide mô phỏng vùng HR2 của gp41, tương ứng với các tiểu đơn vị 127-162 của vùng này. Do đó, enfuvirtide cạnh tranh với HR2, liên kết giữa thuốc với HR1 ngăn cản sự hình thành cấu trúc xoắn kẹp tóc và quá trình hợp màng của virus với tế bào chủ. Enfuvirtide có hoạt tính trên các chủng HIV-1 và không có hoạt tính trên HIV-2.

Sự đề kháng với enfuvirtide được quan sát thấy cả *in vitro* và trên lâm sàng. Nhiều đột biến kháng thuốc này tìm thấy trong vùng amino acid 36-45 trên HR1, có thể liên quan đến việc giảm ái lực của thuốc với các chủng virus đột biến. Ngoài ra, những đột biến này cũng có khả năng ảnh hưởng đến sự tương tác giữa vùng HR1 và HR2 của virus, từ đó giảm mức độ ổn định của cấu trúc xoắn kẹp tóc, dẫn đến sự thay đổi động học của quá trình dung hợp, khả năng gây bệnh, sao chép, sự nhận biết miễn dịch và các yếu tố khác trong quá trình hợp màng của virus [10]. Đồng thời, một số chủng virus có mức độ kháng thuốc cao chứa các đột biến bổ sung trong vùng HR2, làm tăng ái lực với HR1 đột biến và do đó ưu tiên liên kết HR1-HR2 hơn so với liên kết HR1 - thuốc [11].

Maraviroc

CCR5 là một thụ thể chemokine biểu hiện trên màng một số loại tế bào cụ thể ở người (lympho, đại thực bào,…). Như giải thích ở trên, HIV sử dụng thụ thể này trong quá trình xâm nhập vào tế bào chủ. Maraviroc được phê duyệt năm 2007 như là chất đối vận của CCR5, ngăn cản protein gp120 của HIV liên kết với thụ thể này và như vậy chặn quá trình xâm nhập của virus. Maraviroc là tác nhân chống HIV đầu tiên có mục tiêu tác động nằm trên tế bào chủ thay vì trên virus. Thuốc ngăn chặn sự lây nhiễm của các chủng HIV sử dụng CCR5 để gắn kết và xâm nhập nhưng không có hoạt tính chống lại các chủng HIV sử dụng thụ thể CXCR4 hay cả hai thụ thể [12].

Đề kháng với maraviroc thường xảy ra khi các chủng HIV-1 sử dụng CXCR4 để xâm nhập không được phát hiện trước đó được chọn lọc dưới áp lực của quá trình điều trị. Điều này diễn ra khi các chủng virus sử dụng CCR5, ban đầu là thành phần lây nhiễm chủ yếu, bị ức chế và như vậy các chủng sử dụng CXCR4 nhân lên, trở thành chủng virus chính gây bệnh. Trên lâm sàng, nhiều đột biến ở các chủng virus đề kháng được tìm thấy tại vùng biến đổi thứ 3 V3 (third variable region) của gp120, phổ biến gồm G11R, P13R, A25K. Đề kháng với maraviroc thường là không cạnh tranh. Cơ chế đề kháng vẫn chưa được hoàn toàn làm rõ. Tuy nhiên, cơ chế này có thể liên quan đến các đột biến làm tăng ái lực của gp120 với phức hợp CCR5-maraviroc, bất chấp những thay đổi về cấu trúc của CCR5 khi liên kết với thuốc. Các virus kháng thuốc có thể tương tác với CCR5 thông qua việc tăng cường liên kết với vùng đầu cuối N của CCR5 [13].

Fostemsavir

Fostemsavir được ly giải bởi enzyme alkaline phosphastase trong lòng ruột thành dẫn chất trung gian hydroxymethyl và nhanh chóng chuyển hóa thành temsavir (mất phân tử formaldehyde). Temsavir gắn vào đơn vị gp120 của lớp vỏ virus và có thể có hai cơ chế tác dụng. Ở nồng độ cao, thuốc tạo phức hợp với 3 tiểu đơn vị gp120 (tỷ lệ cân bằng 3:3), ngăn cản liên kết giữa gp120 với thụ thể CD4, do đó ngăn sự gắn kết của virus lên

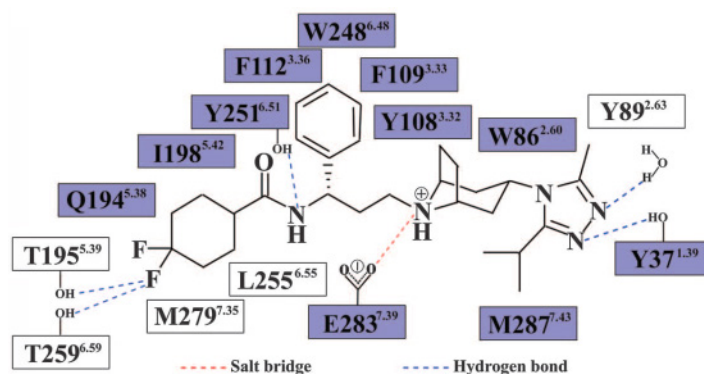
tế bào chủ. Ở nồng độ thấp hơn, khi chỉ một hoặc hai phân tử thuốc liên kết với gp120 (tỷ lệ 1:3 hoặc 2:3), sự liên kết này ngăn cản quá trình thay đổi cấu dạng của gp120 cần cho sự hợp màng và như vậy chặn sự xâm nhập của virus. Fostemsavir (được FDA phê duyệt năm 2020) có hoạt tính trên các chủng HIV-1 và không có hoạt tính trên HIV-2 [14].

Một số đột biến kháng thuốc trong cấu trúc của gp120 được tìm thấy *in vitro* và *in vivo*, đặc biệt những đột biến nằm trong hoặc gần vị trí liên kết với fostemsavir và/hoặc với CD4 có thể làm mất các tương tác kị nước giữa thuốc và gp120 hoặc làm giảm kích thước của vị trí liên kết với thuốc, dẫn đến sự đề kháng hay giảm nhạy cảm với thuốc [15].

3.2.4. Quan hệ cấu trúc - tác dụng

- Enfuvirtide: nghiên cứu gần đây về cấu trúc đồng kết tinh giữa enfuvirtide và N39, một peptide từ vùng heptad lặp lại ở đầu cuối N của gp41, cho thấy cả cấu trúc đầu N và đầu C của enfuvirtide đóng vai trò quan trọng với sự ổn định liên kết của thuốc thông qua nhiều tương tác kị nước và liên kết hydrogen. Đồng thời, các kỹ thuật lý sinh (quang phổ lưỡng sắc tròn - circular dichroism spectroscopy, điện di trên gel polyacrylamide ở trạng thái tự nhiên - native polyacrylamide gel electrophoresis, chuẩn độ nhiệt lượng đẳng nhiệt - isothermal titration calorimetry) và phân tích đột biến chứng minh vai trò thiết yếu của các tương tác giữa vùng giàu tryptophan (tryptophan-rich motif) của enfuvirtide với vùng gần peptide dung hợp của N39 đối với ái lực cũng như tác dụng ức chế của thuốc trên đích tác động [16].

- Maraviroc: cấu trúc chứa một nhóm amin bậc ba (nhân tropane), hai nhóm kị nước và một nhóm heteroaryl, bốn yếu tố pharmacophore tìm thấy trong hầu hết các chất đối vận CCR5 được phát triển. Đồng thời, nhóm chức 4,4-difluorocyclohexyl đóng vai trò quan trọng trong việc hạn chế đáng kể ái lực của thuốc với kênh hERG do cản trở không gian và tính lưỡng cực được tạo ra từ gốc difluoro [17]. Cấu trúc đồng kết tinh của maraviroc với CCR5 làm sáng tỏ hơn các tương tác giữa thuốc và thụ thể này: nitrogen của nhân tropane có thể được proton hóa và tham gia vào tương tác tĩnh điện với Glu283. Nitrogen của nhóm amide tạo liên kết hydro với Tyr251. Chiều dài của chuỗi carbon giữa hai nguyên tử nitrogen này được chứng minh là rất quan trọng đối với hoạt tính chống HIV của các chất ức chế, tương quan với vị trí không gian giữa Glu283 và Tyr251. Các gốc amine của vòng triazole tạo liên kết hydro với Tyr371. Hai liên kết hydro khác được hình thành bởi một trong hai nguyên tử fluor của vòng cyclohexane với Thr195 và Thr259. Ngoài ra, nhóm phenyl có các tương tác kị nước với năm amino acid mang vòng thơm và các nhóm triazole, tropane, cyclohexane cũng tham gia vào tương tác kị nước với CCR5 (Hình 7.9) [18]. Hoạt tính ức chế của maraviroc được cho là theo cơ chế dị lập thể khi sự gắn kết của thuốc ổn định cấu dạng không hoạt động của CCR5.



Hình 7.9. Liên kết giữa maraviroc và CCR5 [18]

- Fostemsavir: quan hệ cấu trúc - tác dụng của các dẫn chất indole glyoxamide phát triển đến nay được tóm tắt trong Hình 7.10 [14,19].

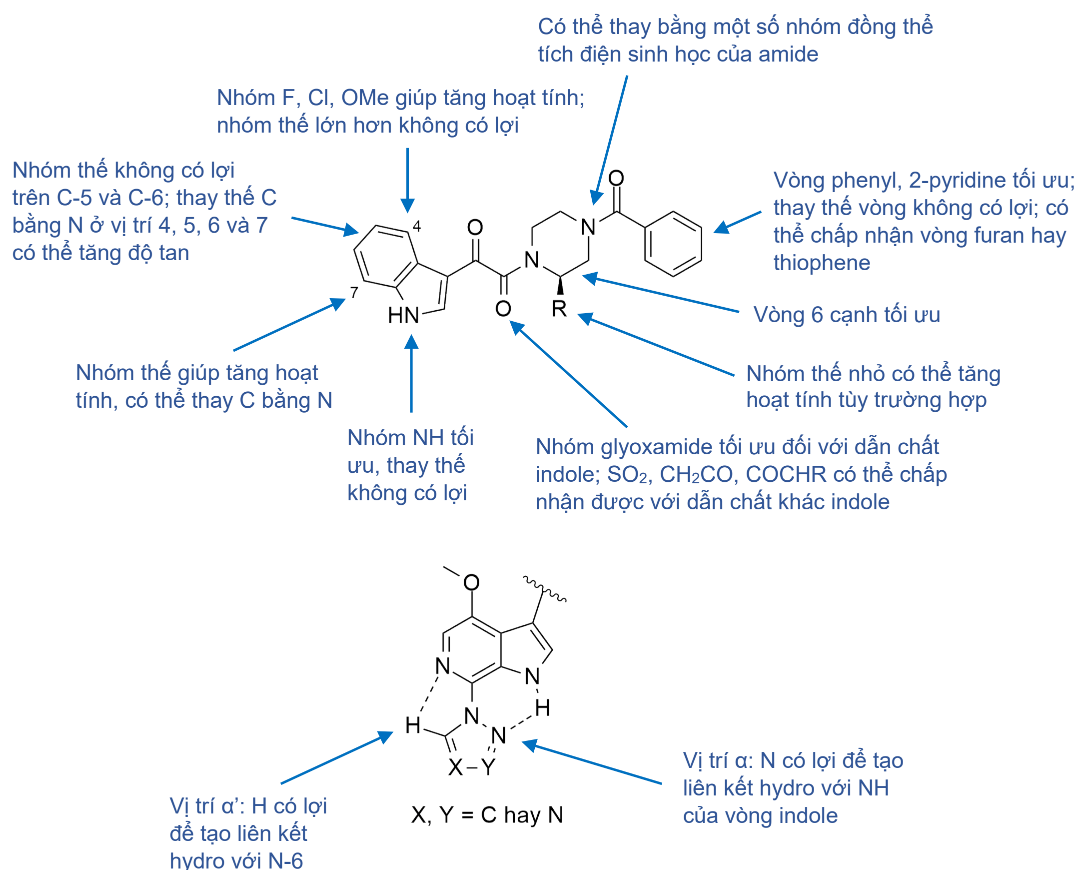
+ Sự thay thế vòng phenyl benzamide thường làm giảm hoạt tính, tuy nhiên có thể chấp nhận vòng 2-pyridyl và một số dị vòng 5 cạnh như thiophene và furane.

+ Các nhóm thế có kích thước bé trên vòng piperazine gần với gốc glyoxamide có thể có lợi, tuy nhiên điều này phụ thuộc vào tùy trường hợp và các nhóm alkyl có kích thước bé thường dễ bị chuyển hóa.

+ Gốc glyoxamide cho thấy có hoạt tính tối ưu trong nhóm các dẫn chất indole.

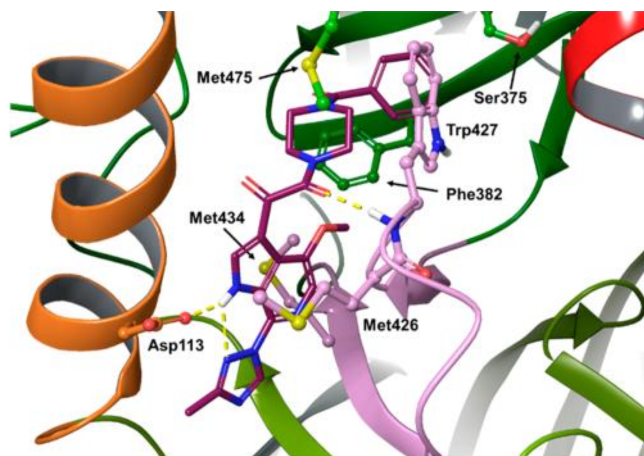
+ Một số nhóm thế ở vị trí C-4 trên dị vòng indole có thể có lợi, tuy nhiên các nhóm thế ở vị trí C-5 và C-6 thường làm giảm hoạt tính. Thay thế nguyên tử carbon C-6 bằng nguyên tử nitrogen có thể được chấp nhận với hoạt tính giảm không đáng kể và độ tan gia tăng. Các nhóm thế ở vị trí C-7, đặc biệt là các nhóm chức giàu nguyên tử lai hóa sp^2 (carboxamide và dị vòng) có thể giúp gia tăng hoạt tính.

+ Đối với các dẫn chất chứa nhóm thế ở vị trí C-7, tương tác nội phân tử giữa nhóm thế với dị vòng indole hoặc azaindole ảnh hưởng đáng kể đến hoạt tính: các tương tác dẫn đến cấu trúc đồng phẳng giúp gia tăng hoạt tính.



Hình 7.10. Tóm tắt quan hệ cấu trúc - tác dụng của các dẫn chất indole/azaindole glyoxamide

Cấu trúc đồng kết tinh giữa temsavir và gp120 dù với độ phân giải tương đối hạn chế (3.8 Å) làm sáng tỏ phần nào các tương tác giữa thuốc với mục tiêu tác động và giải thích một số đặc điểm cấu trúc liên quan đến tác dụng của thuốc (Hình 7.11) [20]. Temsavir liên kết với gp120 tại giao diện giữa vùng bên trong (inner domain) và vùng bên ngoài (outer domain) nằm dưới vùng gấp β20-β21 và tương tác với đầu cuối C của cấu trúc xoắn α1. Tương tác giữa thuốc với gp120 chủ yếu là tương tác kị nước cùng với các tương tác π-stacking giữa vòng benzoyl với Phe382 và Trp427. Ngoài ra, liên kết hydro giữa NH của Trp427 với nhóm carbonyl oxoacetamide và giữa mạch bên của Asp113 với NH của vòng azaindole đóng góp vào tương tác gp120-thuốc.



Hình 7.11. Cấu trúc đồng kết tinh của temsavir và gp120 [14]

3.2.5. Ứng dụng trong trị liệu

- Enfuvirtide: điều trị nhiễm HIV-1 trong phác đồ kết hợp với các thuốc kháng virus khác ở bệnh nhân thất bại với các liệu pháp điều trị khác trước đó.

- Maraviroc: sử dụng phối hợp với các tác nhân kháng virus khác trong điều trị bệnh nhân nhiễm HIV-1 sử dụng CCR5 để xâm nhập.

- Fostemsavir: điều trị nhiễm HIV-1 đa kháng ở bệnh nhân thất bại với các phác đồ điều trị hiện hành do kháng thuốc, không dung nạp hay không an toàn.

3.2.6. Dạng bào chế

- Enfuvirtide: tiêm dưới da (do cấu trúc peptide không thể sử dụng qua đường uống).

- Maraviroc: viên nén.

- Fostemsavir: tiền dược dưới dạng muối giúp tăng độ tan trong nước và do đó khắc phục khả năng hấp thụ hạn chế do độ hòa tan, chế phẩm viên nén phóng thích kéo dài giúp tăng thời gian bán thải của thuốc và giảm số lần dùng thuốc trong ngày.

3.2.7. Dược động học

- Enfuvirtide: thời gian bán thải ngắn (khoảng 4 giờ) do có cấu trúc peptide cuộn xoắn ngẫu nhiên nhạy cảm với protease huyết thanh [11]. Ít hơn 17% thuốc chuyển hóa thành dẫn xuất loại bỏ một amino acid (deaminated) ít có hoạt tính. Cả enfuvirtide và chất chuyển hóa chủ yếu được thải trừ qua quá trình dị hóa phân giải protein thành các đơn vị amino acid [21].

- Maraviroc: được chuyển hóa thành các dẫn xuất không có hoạt tính chủ yếu bởi CYP3A4, do đó liều dùng cần được điều chỉnh khi uống cùng với các thuốc có tác dụng ức chế hay cảm ứng CYP3A4. Dẫn xuất *N*-dealkyl hóa là chất chuyển hóa chính [13].

- Temsavir: được chuyển hóa chủ yếu bởi esterase và một phần bởi CYP3A4.

3.2.8. Tác dụng phụ

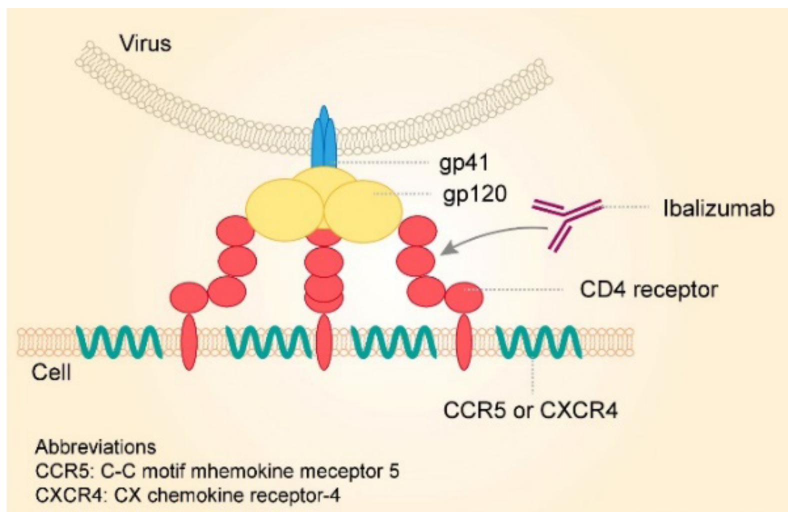
- Enfuvirtide: tác dụng phụ chính là phản ứng tại chỗ tiêm như đau, mẫn đỏ, nổi sần [9].

- Maraviroc: cẩn thận trọng khi sử dụng cho những bệnh nhân có nguy cơ tăng các biến cố tim mạch.

- Fostemsavir: phần lớn tác dụng phụ ở mức độ nhẹ hoặc trung bình, chủ yếu là buồn nôn, tiêu chảy, nhức đầu, đau bụng, khó tiêu, mệt mỏi, phát ban, rối loạn giấc ngủ [22].

3.3. Kháng thể đơn dòng

Ibalizumab là kháng thể đơn dòng đầu tiên được chấp thuận cho điều trị nhiễm HIV-1. Sau khi gp120 HIV gắn vào CD4, ibalizumab sẽ ức chế phức gp120-CD4 tương tác với CCR5 hoặc CXCR4, ngăn chặn sự xâm nhập của HIV-1 vào các tế bào CD4 trong khi vẫn duy trì chức năng miễn dịch bình thường. Ibalizumab thường được kết hợp với những thuốc kháng virus khác trong điều trị nhiễm HIV-1 đề kháng đa thuốc ở người lớn. Ibalizumab được bào chế dưới dạng dung dịch tiêm (150 mg/mL) [23].



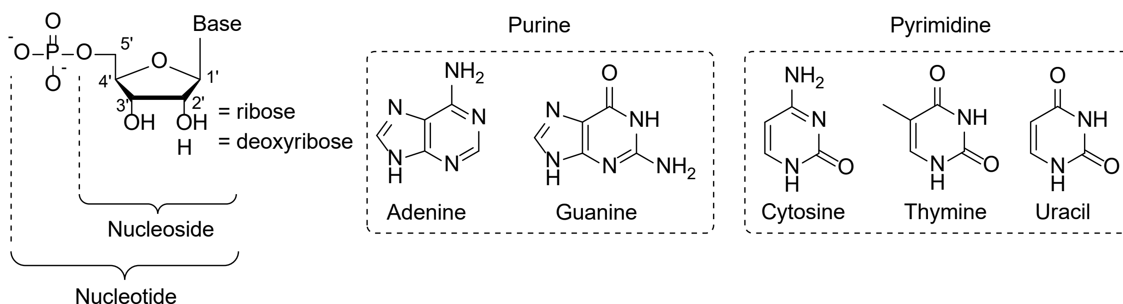
Hình 7.12. Cơ chế tác động của ibalizumab

4. THUỐC CAN THIỆP VÀO QUÁ TRÌNH NHÂN BẢN NUCLEIC ACID CỦA VIRUS (Agents interfering with viral nucleic acid replication)

4.1. Thuốc ức chế DNA polymerase (DNA polymerase inhibitors)

Virus cũng như tế bào chủ cần có polymerase cho quá trình sao chép gen. Các virus với bộ gen DNA nhỏ, như papillomavirus và polyomavirus, có khả năng mã hóa hạn chế và chủ yếu sử dụng cơ chế sao chép của vật chủ cho quá trình này. Ngược lại, các virus

với kích thước DNA lớn chứa polymerase đặc hiệu của chúng và một số protein khác đảm bảo cho sự sao chép thông tin di truyền. Do vai trò quan trọng của polymerase trong quá trình nhân lên của virus và sự khác biệt giữa polymerase đặc hiệu của virus so với tế bào chủ, enzyme này trở thành một mục tiêu tiềm năng để phát triển các thuốc kháng virus. Các thuốc ức chế DNA polymerase thường được phân loại dựa vào sự tương đồng về cấu trúc so với nucleoside hoặc nucleotide tự nhiên (Hình 7.13).



Hình 7.13. Cấu trúc chung của nucleoside và nucleotide tự nhiên

4.1.1. Thuốc tương đồng nucleoside không vòng (Acyclic nucleoside analogs)

4.1.1.1. Cấu trúc - Tính chất

- Acyclovir (aciclovir, ACV) là chất tương đồng với deoxyguanosine với phần đường không đầy đủ (thiếu C2' và C3') và không đóng vòng. Bột kết tinh màu trắng hoặc gần trắng. Khó tan trong nước, dễ tan trong dimethyl sulfoxide, rất khó tan trong ethanol 96%. Tan trong các dung dịch acid vô cơ loãng và hydroxide kiềm loãng. pK_a: 2.27 và 9.25.

Valaciclovir (VACV) là tiền dược L-valyl ester của acyclovir, nhanh chóng được chuyển hóa thành acyclovir bởi esterases trong ruột và gan. Valaciclovir hydrochloride (chế phẩm trên thị trường) là bột màu trắng hoặc trắng ngà. Độ tan tối đa trong nước ở 25 ºC là 174 mg/mL. pK_a: 1.90, 7.47 và 9.43.

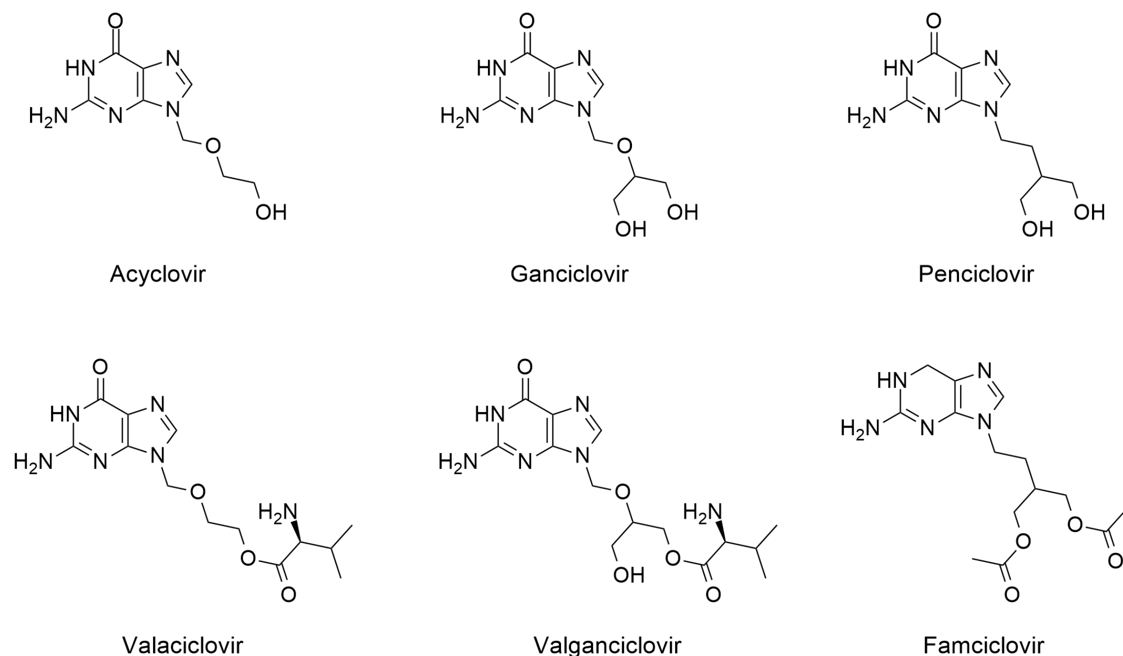
- Ganciclovir (GCV) cũng là chất tương đồng với deoxyguanosine với phần đường không đóng vòng (thiếu C2'). Bột kết tinh màu trắng hoặc gần trắng. Ít tan trong nước, rất ít tan trong ethanol 96%. Tan trong các dung dịch acid vô cơ loãng và hydroxide kiềm loãng. pK_a: 2.2 và 9.4.

Valganciclovir (VGCV) là tiền dược L-valyl ester của ganciclovir, nhanh chóng được chuyển hóa thành ganciclovir bởi esterases trong ruột và gan. Valganciclovir hydrochloride là bột màu trắng hoặc trắng ngà, độ tan trong nước ở 25 ºC là 70 mg/mL ở pH 7.0. pK_a: 7.6.

- Penciclovir (PCV) là chất tương tự ganciclovir với nhóm oxygene ether được thay thế bằng nhóm methylene. Chất rắn màu trắng đến vàng nhạt. Độ tan ở 20 ºC là 0.2 mg/

mL trong methanol, 1.3 mg/mL trong propylene glycol và 1.7 mg/mL trong nước. Độ tan trong nước ở pH 2 là 10.0 mg/mL.

Famciclovir (FCV) là tiền dược diacetyl ester của penciclovir, được chuyển hóa thành penciclovir bởi esterases và aldehyde oxidase. Chất rắn màu trắng đến vàng nhạt. Dễ tan trong acetone và methanol, ít tan trong ethanol và isopropanol. Ở 25 ºC, ban đầu dễ tan trong nước (> 25% khối lượng/thể tích) nhưng sau đó nhanh chóng kết tủa vì dạng monohydrate ít tan (2-3% khối lượng/thể tích).



Hình 7.14. Thuốc tương đồng nucleoside không vòng

4.1.1.2. Cơ chế tác dụng - Phổ kháng virus - Sự đề kháng

Các chất tương đồng nucleoside cần phải được phosphoryl hóa thành dạng có hoạt tính triphosphate để phát huy tác dụng. Dưới dạng phosphoryl hóa, các tác nhân này mô phỏng nucleoside triphosphate, là cơ chất tự nhiên của polymerase. Như vậy, các chất tương đồng nucleoside có thể có hai cơ chế tác dụng:

- Ức chế polymerase bằng cách cạnh tranh với cơ chất tự nhiên nucleoside triphosphate.

- Gắn vào chuỗi DNA đang được tổng hợp và chấm dứt quá trình này.

Các tác nhân này cần có tính chọn lọc trên tế bào nhiễm virus để giảm thiểu độc tính của thuốc. Tính chọn lọc này phụ thuộc vào hai điều kiện: hiệu quả phosphoryl hóa của enzyme virus so với enzyme của tế bào chủ và hoạt tính ức chế quá trình tổng hợp DNA của virus so với tế bào chủ [24].

Acyclovir và valaciclovir

Đầu tiên, acyclovir được chuyển thành dạng monophosphate bởi thymidine kinase của virus. Phản ứng phosphoryl hóa này diễn ra nhanh hơn trong tế bào nhiễm virus so với tế bào thường vì thymidine kinase của virus có hiệu quả hơn 100 lần so với enzyme tế bào chủ, góp phần vào tính chọn lọc của thuốc. Sau đó, thuốc tiếp tục được chuyển thành dạng di- và triphosphate bởi enzyme của tế bào chủ và ức chế polymerase của virus trong quá trình tổng hợp DNA. Acyclovir triphosphate cho thấy tác dụng chọn lọc gấp 50 lần trên polymerase của virus so với polymerase của tế bào chủ, góp phần vào tính an toàn của thuốc. Cuối cùng, acyclovir triphosphate được kết hợp vào chuỗi DNA của virus và do thiếu nhóm 3'-OH trong cấu trúc của phần đường, thuốc chấm dứt sự kéo dài của chuỗi DNA trong quá trình tổng hợp [2].

Acyclovir có hoạt tính mạnh trên HSV-1 và HSV-2, ức chế VZV và một số chủng EBV ở mức độ thấp hơn. Tuy nhiên, CMV ít nhạy cảm với acyclovir [1].

Acyclovir có sinh khả dụng đường uống và độ hòa tan trong nước hạn chế, do đó cần phải dùng liều tương đối lớn và thường xuyên để duy trì nồng độ thuốc trong huyết tương đủ cao cho tác dụng ức chế virus. Một số tiền dược được phát triển để cải thiện các đặc tính này và trong số này, valaciclovir được chứng minh đủ tính an toàn và hiệu quả. Sinh khả dụng đường uống tăng lên của valaciclovir được cho là do sự hấp thu qua đường ruột bởi protein vận chuyển hPEPT1. Đồng thời, sự cải thiện này góp phần tăng hiệu quả ức chế VZV và CMV của thuốc [25].

Sự đề kháng với acyclovir thường liên quan đến thymidine kinase và DNA polymerase của virus. Ba chủng thymidine kinase đề kháng acyclovir được tìm thấy gồm: TK-negative (TKN), TK-partial (TKP) và TK-altered (TKA). Thể đột biến TKN không có hoạt tính phosphoryl hóa trong khi đột biến TKP có mức độ biểu hiện enzyme giảm và đột biến TKA liên quan đến tính đặc hiệu của cơ chất: phosphoryl hóa thuốc kém hiệu quả hơn nhiều so với cơ chất tự nhiên thymidine. Các đột biến trên DNA polymerase cũng được tìm thấy nhưng ít thường xuyên hơn. Nhìn chung, đột biến thymidine kinase dẫn đến mức độ hoạt hóa thuốc thấp hơn, trong khi đột biến DNA polymerase làm giảm ái lực của polymerase đối với dẫn chất triphosphate và do đó hạn chế hoạt tính ức chế tổng hợp DNA của virus [24,26].

Penciclovir và famciclovir

Cơ chế tác dụng của penciclovir cũng tương tự so với acyclovir với một số điểm khác biệt sau [27]:

- Penciclovir có ái lực cao hơn với thymidine kinase của HSV so với acyclovir. Tuy nhiên, acyclovir triphosphate có ái lực với DNA polymerase cao hơn so với penciclovir triphosphate, do đó trên thực tế hai thuốc này có hiệu lực kháng virus tương tự nhau.

- Penciclovir triphosphate bền hơn acyclovir triphosphate trong các tế bào nhiễm HSV, dẫn đến thời gian bán thải nội bào dài hơn từ 10 đến 20 lần.

- Penciclovir triphosphate khi xen vào chuỗi DNA cho phép kéo dài một phần chuỗi do vẫn còn nhóm 3'-OH trong cấu trúc của thuốc.

Tương tự như acyclovir, penciclovir hấp thu kém qua đường uống. Do đó, famciclovir được phát triển dưới dạng tiền dược dùng đường uống. Penciclovir và famciclovir có hoạt tính trên HSV, VZV, EBV và HBV mãn tính.

Với cơ chế tác dụng tương tự, virus đề kháng với acyclovir cũng thường đề kháng chéo với penciclovir và famciclovir.

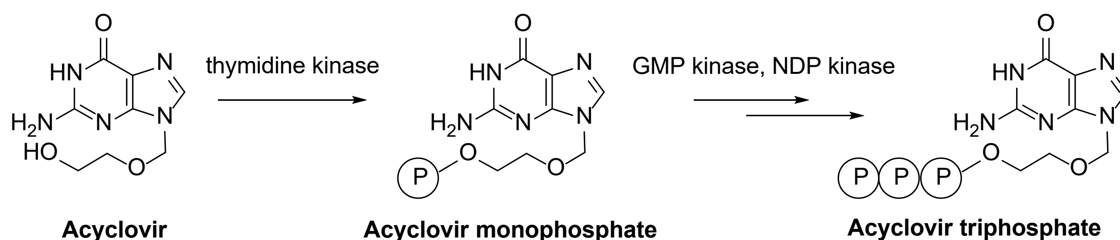
Ganciclovir và valganciclovir

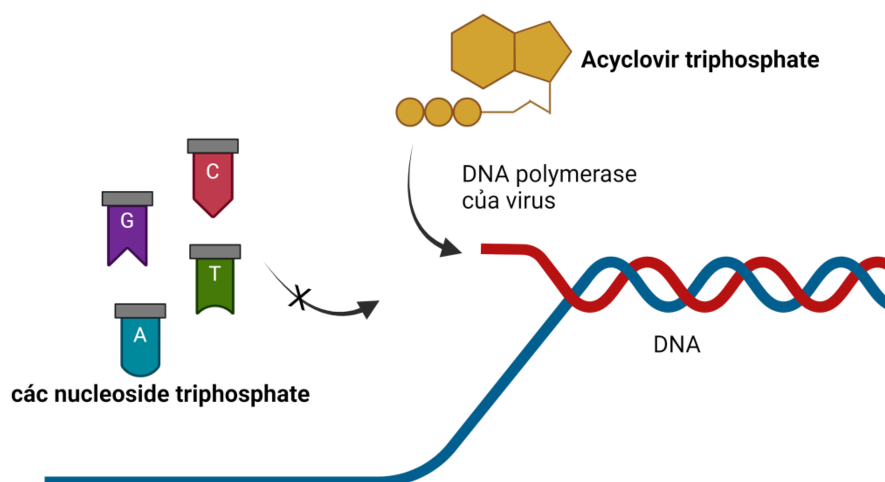
Như đề cập ở trên, acyclovir có hoạt tính thấp trên CMV do mức độ phosphoryl hóa thuốc thấp hơn nhiều trong tế bào nhiễm CMV. CMV không mã hóa enzyme tương đồng với thymidine kinase của HSV mà mã hóa một loại protein kinase đặc hiệu, UL97 và enzyme này chuyển hóa hiệu quả ganciclovir thành dạng monophosphate, dẫn đến tăng 30 lần dẫn chất phosphoryl hóa trong tế bào nhiễm virus so với tế bào thường. Ganciclovir monophosphate sau đó được chuyển thành di- và triphoshate bởi enzyme của tế bào chủ tương tự như với acyclovir. Ganciclovir triphosphate ức chế DNA polymerase của virus hiệu quả hơn so với polymerase tế bào chủ. Mặc dù không dẫn đến kết thúc ngay lập tức quá trình tổng hợp DNA như trong trường hợp acyclovir (do vẫn chứa nhóm 3'-OH), khi gắn vào chuỗi DNA, thuốc vẫn ngăn chặn sự kéo dài chuỗi sau khi nucleotide tiếp theo được gắn vào. Mức độ chọn lọc của ganciclovir trên CMV thấp hơn so với acyclovir trên HSV hoặc VZV, dẫn đến độc tính cao hơn trên lâm sàng.

Sinh khả dụng kém của ganciclovir (~6%) dẫn đến sự phát triển của tiền dược valganciclovir với sinh khả dụng đường uống khoảng 60% [24].

Ganciclovir và valganciclovir có hoạt tính trên HSV và CMV.

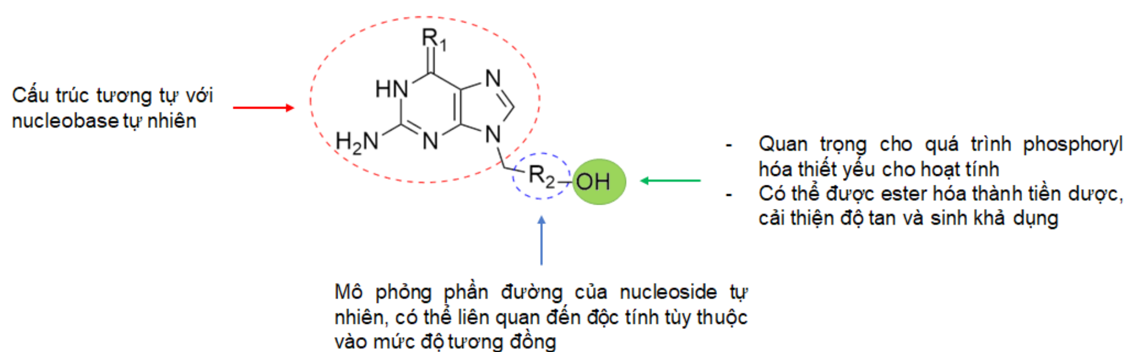
Phần lớn sự đề kháng với ganciclovir liên quan đến một hay nhiều đột biến trên gen UL97. Mặc dù ít phổ biến hơn, đột biến trên DNA polymerase của virus cũng có thể dẫn đến đề kháng [28].





Hình 7.15. Cơ chế tác dụng của các chất tương đồng nucleoside không vòng [29]

4.1.1.3. Quan hệ cấu trúc - tác dụng



Hình 7.16. Tóm tắt quan hệ cấu trúc - tác dụng
của các chất kháng virus tương đồng nucleoside không vòng

4.1.1.4. Ứng dụng trong trị liệu - Dạng bào chế

Các chỉ định chính và dạng bào chế của các thuốc trong nhóm được tóm tắt trong Bảng 7.2.

Bảng 7.2. Tóm tắt chỉ định chính và dạng bào chế của thuốc tương đồng nucleoside không vòng

Thuốc	Chỉ định	Dạng bào chế
Acyclovir	Nhiễm HSV-1 và HSV-2 niêm mạc, da và toàn thân. Nhiễm VZV	Đường uống: viên nén, viên nang, hỗn dịch. Đường tiêm IV: dưới dạng muối natri. Tại chỗ: dạng kem.
Valaciclovir	Nhiễm HSV và VZV có thể điều trị bằng đường uống.	Viên nén (dưới dạng muối hydrochloride).
Penciclovir	Nhiễm HSV-1, HSV-2 da và niêm mạc.	Tại chỗ: dạng kem.
Famciclovir	Nhiễm HSV-1, HSV-2 da và niêm mạc Nhiễm VZV.	Viên nén.
Ganciclovir	Nhiễm CMV ở bệnh nhân suy giảm miễn dịch (phòng ngừa và điều trị). Phòng ngừa bệnh do CMV ở bệnh nhân trưởng thành ghép tạng có nguy cơ nhiễm CMV	Đường tiêm IV: dưới dạng muối natri. Tiêm nội nhãn (intravitreal implant).
Valganciclovir	Điều trị viêm võng mạc do CMV ở bệnh nhân mắc hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải (AIDS). Phòng ngừa bệnh do CMV ở bệnh nhân ghép thận, tim hoặc thận - tụy có nguy cơ cao.	Đường uống (dưới dạng muối hydrochloride): viên nén, bột pha dung dịch uống.

4.1.1.5. Tác dụng phụ - Độc tính

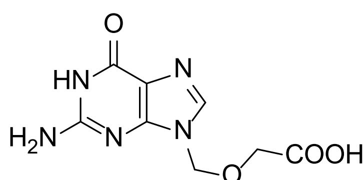
Acyclovir dùng đường uống tương đối an toàn và hiếm khi có tác dụng phụ nghiêm trọng. Tuy nhiên, khi dùng đường tiêm với liều cao, thuốc có thể kết tinh trong ống thận và hoại tử ống thận (khá hiếm). Do đó, cần thận trọng ở bệnh nhân tổn thương chức năng thận, bệnh nhân sử dụng các thuốc có độc tính trên thận khác, lớn tuổi và mất nước. Ngoài ra, độc tính trên thần kinh cũng được ghi nhận ở bệnh nhân tổn thương chức năng thận khi dùng đường tiêm do tỷ lệ thanh thải thuốc giảm đáng kể. Biểu hiện chủ yếu là run, liệt cơ, lú lẫn, hôn mê, kích động và ảo giác. Độc tính thần kinh thường xảy ra trong 24 - 72 giờ đầu tiên dùng thuốc và việc ngừng sử dụng thuốc giúp trở lại bình thường hoàn toàn sau khoảng 15 ngày.

Famciclovir cũng được khuyến cáo giảm liều dùng ở bệnh nhân suy thận.

Ganciclovir với cấu trúc gần với nucleoside tự nhiên hơn cũng có độc tính cao hơn acyclovir. Các tác dụng phụ chủ yếu là các bất thường về huyết học (giảm bạch cầu trung tính, thiếu máu và giảm tiểu cầu), có thể có độc tính sinh sản lâu dài, có khả năng gây đột biến và ung thư. Tương tự acyclovir, độc tính trên thận cũng được ghi nhận khi dùng ganciclovir.

4.1.1.6. Dược động học

Các thuốc trong nhóm nếu không phải là dạng tiền dược có sinh khả dụng kém. Phần lớn các tác nhân này được thải trừ nguyên vẹn qua nước tiểu. Một phần nhỏ acyclovir chuyển hóa thành 9-carboxymethoxymethyl guanine không có hoạt tính (Hình 7.17).



9-Carboxymethoxymethyl guanine

Hình 7.17. Chất chuyển hóa của acyclovir

Bảng 7.3. Một số thông số dược động học của các thuốc tương đồng nucleoside không vòng

Thuốc	Sinh khả dụng	Thời gian bán thải	Đường thải trừ
Acyclovir	15 - 30%	Khoảng 3 giờ	Chủ yếu qua nước tiểu (theo đường tiêm IV) hoặc qua phân (đường uống).
Valaciclovir	Khoảng 54%	2.5 - 3.3 giờ (acyclovir)	Qua phân và nước tiểu.
Famciclovir	Khoảng 77% (dưới dạng chuyển hóa penciclovir)	2.3 - 2.8 giờ (penciclovir)	Hầu hết qua nước tiểu.
Ganciclovir	Khoảng 6%	2.4 giờ	Chủ yếu qua nước tiểu.
Valganciclovir	Khoảng 60% (dưới dạng chuyển hóa gancilcovir)	4 - 5 giờ (ganciclovir)	Chủ yếu qua nước tiểu.

4.1.1.7. Kiểm nghiệm (acyclovir và ganciclovir) [30,31]

Định tính: phổ hấp thụ hồng ngoại.

Định lượng: chuẩn độ bằng dung dịch percloric acid 0.1 M. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế.

Tạp chất liên quan: từ quá trình tổng hợp thuốc [32].

4.1.2. Thuốc tương đồng nucleoside mạch vòng (Conventional nucleoside analogs)

4.1.2.1. Cấu trúc - Tính chất

- Idoxuridine (IDU) và trifluridine (TFT): dẫn chất của deoxyuridine với nhóm thế tại vị trí C5 trên nucleobase và phần đường deoxyribose nguyên vẹn (chất tương đồng thymidine). Idoxuridine là bột kết tinh màu trắng hoặc gần trắng, ít tan trong nước và trong ethanol (96%). Tan trong dung dịch hydroxide kiềm loãng. Dung dịch idoxuridine trong nước có thể phản ứng với ánh sáng mặt trời tạo thành 2'-deoxyuridine (mất nguyên tử iod) và thủy phân bởi nhiệt thành 5-iodouracil và 2-deoxyribose với một lượng vết 2'-deoxyuridine [33].

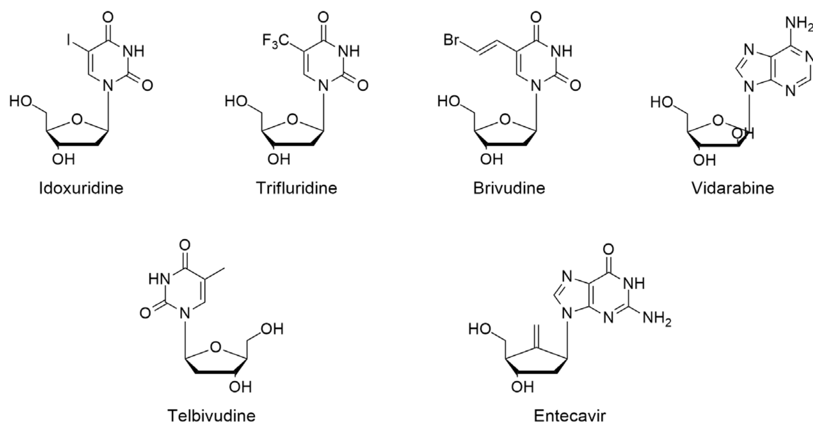
Trifluridine là bột kết tinh màu trắng, tan trong nước.

- Brivudine (BVDU): dẫn chất của thymidine với nhóm bromovinyl tại vị trí C5 trên nucleobase và phần đường deoxyribose nguyên vẹn.

- Vidarabine (Ara-A): chất tương đồng với adenosine với phần đường là arabinose thay vì ribose. Tan kém trong nước.

- Telbivudine (LdT): là đồng phân quang học β-L của thymidine tự nhiên. Bột màu trắng đến vàng nhạt. Ít tan trong nước (> 20 mg/mL), rất ít tan trong ethanol tuyệt đối (0.7 mg/mL) và *n*-octanol (0.1 mg/mL).

- Entecavir (ETV): chất tương đồng với deoxyguanosine với phần đường được thay đổi. Entecavir (dạng monohydrate) là bột màu trắng đến trắng ngà. Ít tan trong nước (2.4 mg/mL), pH của dung dịch bão hòa trong nước ở 25 ºC là 7.9.



Hình 7.18. Thuốc kháng virus có cấu trúc tương đồng nucleoside mạch vòng

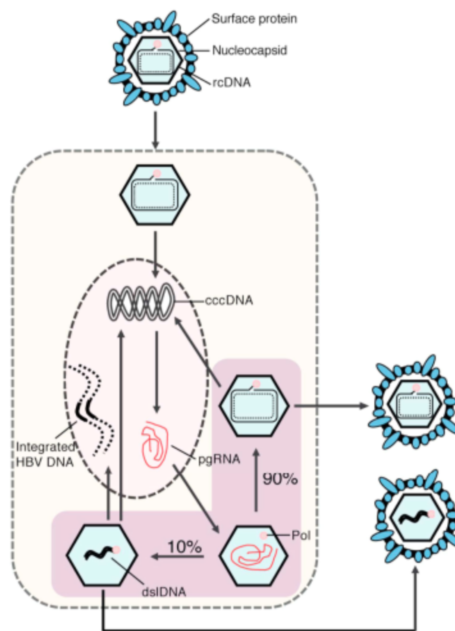
4.1.2.2. Cơ chế tác dụng - Phổ kháng virus - Sự đề kháng

Idoxuridine, trifluridine và vidarabine là những thuốc tương đồng nucleoside đầu tiên được phát triển với cơ chế tác dụng tương tự như acyclovir. Idoxuridine có hoạt tính trên HSV-1, trifluridine có hoạt tính trên HSV và vidarabine có hoạt tính trên HSV và VZV. Tuy nhiên, do cấu trúc gần với nucleoside tự nhiên, các dẫn chất này có tính chọn lọc kém trên DNA polymerase của virus so với enzyme của tế bào chủ dẫn đến độc tính cao hơn và do đó có ứng dụng rất hạn chế.

Ngược lại, brivudine có tính chọn lọc cao trên polymerase của VZV và HSV-1. Brivudine được phosphoryl hóa một cách hiệu quả thành dạng mono- và diphosphate bởi thymidine kinase đặc hiệu của virus, sau đó tiếp tục được chuyển thành dạng triphosphate bởi kinase của tế bào chủ. Dẫn chất này ức chế sự kết hợp của cơ chất tự nhiên deoxythimidine triphosphate vào chuỗi DNA của virus bởi polymerase hoặc gắn vào chuỗi DNA của virus dẫn đến làm mất chức năng của chuỗi. Tuy nhiên, brivudine không có hoạt tính trên HSV-2. Tương tự acyclovir, đề kháng với brivudine cũng thường liên quan đến đột biến trên thymidine kinase của virus [34,35].

Telbivudine và entecavir có tác dụng ức chế DNA polymerase của virus viêm gan B (HBV).

Bộ gen của HBV là một DNA sợi đôi vòng hở (relaxed circular DNA - rcDNA) (Hình 7.19). Sau khi gắn vào tế bào gan nhờ vào kháng nguyên bề mặt (HBsAg) trên lớp vỏ virus, nucleocapsid được giải phóng vào tế bào chủ. rcDNA sau đó được chuyển đổi thành DNA vòng đồng hóa trị (covalently closed circular - cccDNA) bởi protein trong nhân tế bào chủ. cccDNA hoạt động như khuôn mẫu phiên mã cho mRNA và RNA tiền gen của virus (pregenomic RNA - pgRNA). pgRNA cùng với polymerase của virus (Pol) được đóng gói vào capsid của virus, nơi diễn ra quá trình phiên mã ngược của pgRNA, sản xuất ra rcDNA hoặc DNA sợi đôi mạch thẳng (double-stranded linear DNA - dslDNA). Thông qua quá trình này, nhiều dạng trung gian của quá trình nhân bản virus được tạo ra và đôi khi được giải phóng khỏi tế bào chủ (Hình 7.19). Dạng virus chính sản xuất bởi tế bào nhiễm HBV là nuceocapsid chứa rcDNA. Chúng có thể được đóng gói vào lớp vỏ virus và giải phóng khỏi tế bào nhiễm bệnh (quá trình lây lan chính của virus) hoặc được đưa trở lại vào nhân tế bào. dslDNA (cũng tương tự như rcDNA) có thể được vận chuyển lại vào nhân tế bào chủ để tạo thành cccDNA hoặc giải phóng khỏi tế bào chủ. Ngoài ra, dslDNA có thể tích hợp vào bộ gen của tế bào chủ, diễn ra với tỷ lệ $1/10^5$-10^6 ở tế bào nhiễm bệnh [36].



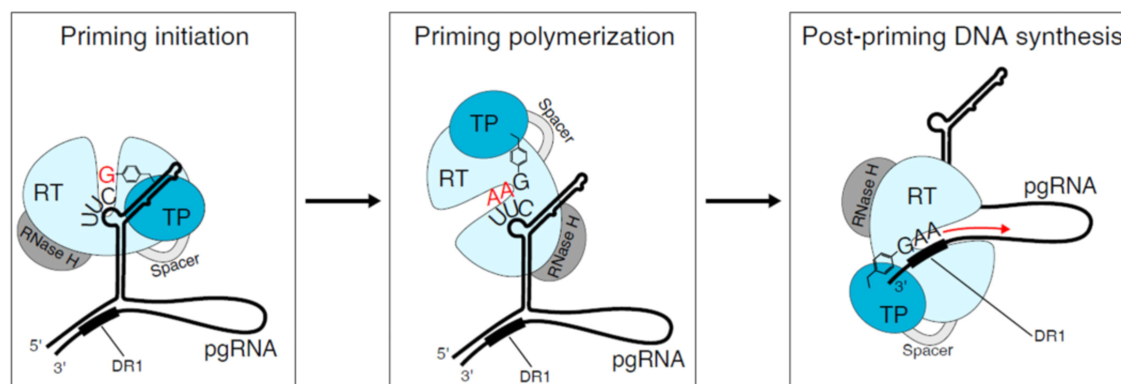
Hình 7.19. Vòng đời của virus HBV [36]

Polymerase của virus HBV có chức năng như một enzyme phiên mã ngược (reverse transcriptase - RV) riêng biệt. Cấu trúc của enzyme này bao gồm một vùng protein đầu cuối (terminal protein domain - TP), một vùng đệm (spacer domain), một vùng enzyme phiên mã ngược (reverse transcriptase domain - RV) và một vùng ly giải RNA (RNase H domain). Quá trình tổng hợp DNA ban đầu của virus được thực hiện qua ba giai đoạn, tương ứng với cấu dạng riêng biệt của polymerase và nucleotide sử dụng. Đầu tiên, giai đoạn khởi đầu mồi bằng protein diễn ra (priming initiation), một nucleotide deoxyguanosine (G) gắn vào một đơn vị tyrosine trên vùng TP. Tiếp theo, giai đoạn mồi tiếp tục bằng sự gắn hai nucleotide deoxyadenosine (A) (priming polymerization). Đoạn oligonucleotide ngắn này sau đó được chuyển đến đầu 3' của pgRNA tại trình tự lặp lại trực tiếp 1 (direct repeat 1 sequence - DR1) và sợi âm DNA tiếp tục được kéo dài (post-priming DNA synthesis), sử dụng pgRNA như khuôn mẫu sao chép (Hình 7.20) [37]. Đồng thời với hoạt động phiên mã ngược, polymerase ly giải một đoạn khuôn mẫu RNA nhờ chức năng Rnase H, tạo ra một đoạn oligonucleotide hoạt động như đoạn mồi cho quá trình tổng hợp DNA sợi dương sau đó.

Telbivudine (dưới dạng triphosphate) cạnh tranh với thymidine để gắn vào chuỗi DNA và dẫn đến sự kết thúc chuỗi (DNA terminator). Telbivudine có tác dụng ức chế tổng hợp DNA sợi dương hiệu quả hơn so với sợi âm. Đề kháng với telbivudine chủ yếu do đột biến M204I trên polymerase của virus.

Entecavir triphosphate có tác dụng ức chế polymerase của virus tại giai đoạn mồi ban đầu, trong quá trình tổng hợp DNA sợi âm và sợi dương. Đề kháng với entecavir khá hiếm

ở bệnh nhân chưa qua điều trị bằng các thuốc tương đồng nucleoside. Tuy nhiên, sự kháng thuốc có thể xảy ra khi có thêm các đột biến bổ sung trên polymerase của các chủng virus đề kháng với các thuốc tương đồng nucleoside sử dụng trước đó [38].

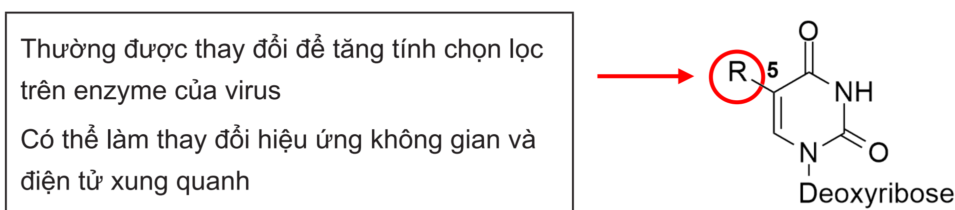


Hình 7.20. Quá trình tổng hợp DNA của virus HBV bởi polymerase [37]

4.1.2.3. Quan hệ cấu trúc - tác dụng

Thay thế nhóm methyl tại vị trí C5 của thymidine bởi nguyên tử iodine (idoxuridine) và nhóm trifluoromethyl (trifluridine) làm tăng tính acid của nguyên tử nitrogen tại vị trí số 3 và do đó giảm đáng kể pK_a của các dẫn chất này so với thymidine (pK_a của thymidine, idoxuridine và trifluridine lần lượt là 9.8, 8.2 và 7.3). Điều này ảnh hưởng đến lượng thuốc tồn tại dưới dạng không ion hóa trong môi trường sinh lý [39].

Cấu dạng *E* của nhóm bromovinyl tại vị trí C5 của brivudine có vai trò quan trọng đối với hoạt tính của thuốc, có thể do là cơ chất phù hợp hơn với thymidine kinase của virus so với cấu dạng *Z* [39].



Hình 7.21. Quan hệ cấu trúc - tác dụng của các thuốc tương đồng thymidine

Nhóm 3'-OH trong cấu trúc của telbivudine cũng như định hướng trong không gian của nhóm này có vai trò thiết yếu đối với hoạt tính kháng virus của thuốc, rất có thể do liên quan đến tương tác giữa nhóm thế này với polymerase của virus [40].

Phần đường trong cấu trúc của entecavir được thay đổi với một liên kết đôi ngoài mạch vòng thay thế cho nguyên tử oxygen. Liên kết đôi này làm tăng ái lực giữa thuốc

và polymerase của virus, có thể do nằm vừa vào một vùng túi kị nước của enzyme mà cơ chất tự nhiên thymidine không có tương tác, làm tăng hoạt tính của thuốc [41].

4.1.2.4. Ứng dụng trong trị liệu - Dạng bào chế

Các chỉ định chính và dạng bào chế của thuốc trong nhóm được tóm tắt trong Bảng 7.4 [1,3,38,42].

Bảng 7.4. Tóm tắt các chỉ định chính và dạng bào chế của thuốc tương đồng nucleoside

Thuốc	Chỉ định	Dạng bào chế
Idoxuridine	Viêm giác mạc do HSV	Tại chỗ: dung dịch nhãn khoa, thuốc mỡ.
Trifluridine	Viêm kết mạc do HSV	Tại chỗ: dung dịch nhãn khoa.
Brivudine[a]	Nhiễm VZV Viêm giác mạc biểu mô do HSV-1	Đường uống: viên nén. Tại chỗ: dung dịch nhãn khoa.
Vidarabine[b]	Nhiễm HSV-1, HSV-2	Tại chỗ: thuốc mỡ (dạng monohydrate).
Telbivudine	Viêm gan B mạn tính ở bệnh nhân từ 16 tuổi trở lên	Đường uống: viên nén, dung dịch uống.
Entecavir	Viêm gan B mạn tính ở bệnh nhân từ 16 tuổi trở lên	Đường uống: viên nén, dung dịch uống (dưới dạng monohydrate).

[a] Không được phê duyệt tại Mỹ và Anh

[b] Ngưng sử dụng tại Mỹ

4.1.2.5. Tác dụng phụ - Độc tính

- Idoxuridine: gây quái thai, đột biến, thúc đẩy khối u và ức chế miễn dịch trong thử nghiệm tiền lâm sàng. Khi sử dụng toàn thân dẫn đến độc tính trên tủy xương như gây giảm bạch cầu, giảm tiểu cầu, thiếu máu và có thể gây bất thường chức năng gan. Tác dụng phụ tại chỗ thường là các phản ứng tại chỗ như đau, ngứa, phù nề, bỏng rát và quá mẫn [1].

- Trifluridine: Tác dụng phụ thường xuyên nhất là cảm giác bỏng rát tạm thời, kích ứng, phù nề tại chỗ và độc tính tủy xương. Có độc tính thấp hơn idoxuridine [1].

- Brivudine: tương đối an toàn hơn so với idoxuridine và trifluridine. Tác dụng phụ chính là buồn nôn, rối loạn tiêu hóa và đau đầu [43].

- Vidarabine: có thể gây đột biến, quái thai và ung thư trong thử nghiệm tiền lâm sàng. Phản ứng quá mẫn như ngứa, ban đỏ, đau mắt và cảm giác có dị vật, có thể xảy ra khi áp dụng lên mắt. Các tác dụng khác gồm sợ ánh sáng, viêm giác mạc sau khi tiếp xúc với tia cực tím và tăng tiết nước mắt [42].

- Telbivudine: nồng độ creatinine kinase (CK) trong huyết thanh tăng cao là tác dụng phụ thường gặp nhất. Các trường hợp bệnh cơ trong quá trình điều trị được báo cáo, nhưng không tương quan với mức độ hoặc thời gian tăng CK. Tuy nhiên, nên ngừng điều trị nếu có các triệu chứng liên quan đến cơ dai dẳng, không giải thích được [38].

- Entecavir: tương đối an toàn khi sử dụng. Độc tính trên ti thể có thể là một nguy cơ. Như với các liệu pháp điều trị nhiễm HBV mạn tính khác, các đợt cấp tính viêm gan B được báo cáo ở bệnh nhân ngưng liệu pháp entecavir. Chức năng gan cần được theo dõi chặt chẽ qua theo dõi lâm sàng và xét nghiệm trong ít nhất vài tháng đối với bệnh nhân ngưng điều trị HBV.

4.1.2.6. Dược động học - Tương tác thuốc

- Idoxuridine: thời gian bán thải trong huyết tương khoảng 30 phút, được chuyển hóa nhanh chóng trong máu thành idoxuracil và uracil [1].

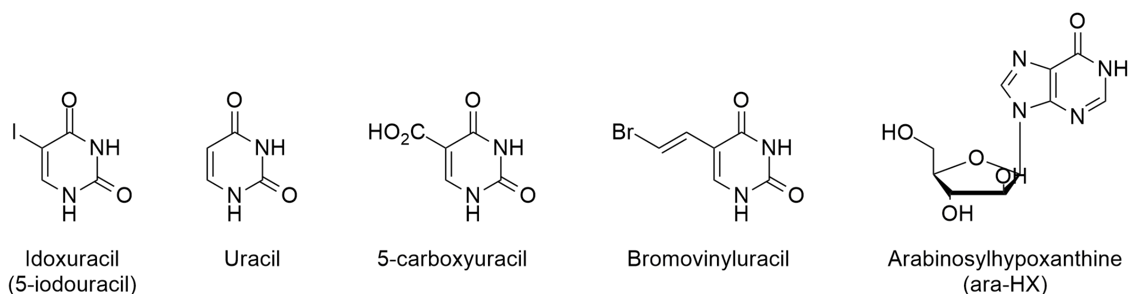
- Trifluridine: thời gian bán thải trong huyết tương khoảng 18 phút (khi tiêm tĩnh mạch), bài tiết nguyên vẹn qua nước tiểu hoặc dưới dạng chuyển hóa không có hoạt tính 5-carboxyuracil [1].

- Brivudine: có sinh khả dụng sau khi hấp thu khá thấp (khoảng 30% liều uống) do chuyển hóa nhiều (first-pass metabolism) thành dạng không có hoạt tính bromovinyluracil. Chất chuyển hóa này ức chế không thuận nghịch enzyme dihydropyrimidine dehydrogenase, enzyme điều chỉnh quá trình chuyển hóa nucleoside tự nhiên và dẫn chất pyrimidine (ví dụ như fluoropyrimidine), do đó chống chỉ định với các dẫn chất này [43].

- Vidarabine: bị loại amine nhanh chóng bởi adenosine deaminase thành chất chuyển hóa chính arabinosylhypoxanthine (ara-HX), có hoạt tính kháng virus yếu. Thời gian bán thải trong huyết tương khoảng 1 giờ [1].

- Telbivudine: hấp thu nhanh qua đường uống. Thời gian bán thải khoảng 40 giờ. Khoảng 40% liều dùng được đào thải nguyên vẹn qua thận. Dùng chung telbivudine với các thuốc ảnh hưởng đến chức năng thận có thể ảnh hưởng đến nồng độ huyết tương của thuốc [38].

- Entecavir: nồng độ thuốc trong huyết tương giảm khi uống cùng với thức ăn, do đó cần sử dụng thuốc ít nhất 2 giờ trước hoặc sau bữa ăn. Thời gian bán thải nội bào của entecavir triphosphate khoảng 15 giờ. Khoảng 2/3 đến 3/4 lượng thuốc được bài tiết nguyên vẹn qua nước tiểu [38].



Hình 7.22. Các chất chuyển hóa chính của thuốc tương đồng nucleoside

4.1.2.7. Kiểm nghiệm

Bảng 7.5. Phương pháp kiểm nghiệm của một số thuốc tương đồng nucleoside

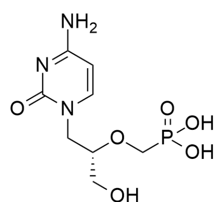
Thuốc	Định tính	Định lượng	Tạp chất liên quan
Idoxuridine	Phổ hấp thụ hồng ngoại. Sắc ký lớp mỏng. Đốt nóng trên lửa trần giải phóng iod màu tím. Phản ứng giữa phần đường (dạng aldehyde sau khi thủy giải) với diphenylamine.	Chuẩn độ đo điện thế bằng dung dịch tetrabutylammonium hydroxide.	5-iodouracil, 2′-deoxyuridine và 5-bromo-2′-deoxyuridine (từ quá trình tổng hợp và phân hủy thuốc).
Trifluridine	Phổ hấp thụ hồng ngoại.	Sắc ký lỏng.	5-carboxy-2’-deoxyuridine, 5-(trifluoromethyl) uracil, 5-carboxyuracil, uracil.
Entecavir	Phổ hấp thụ hồng ngoại Góc quay cực riêng.	Sắc ký lỏng.	Thường là các đồng phân quang học và chất trung gian trong quá trình tổng hợp thuốc.

4.1.3. Thuốc tương đồng nucleotide (Nucleotide analogs)

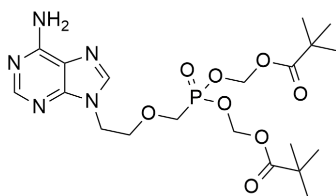
4.1.3.1. Cấu trúc – Tính chất

Cấu trúc chung của các thuốc trong nhóm bao gồm phần base, phần đường mạch hở liên kết với nhóm phosphonate thay vì nhóm phosphate trong cấu trúc của nucleotide tự nhiên (Hình 7.23). Phosphonate là nhóm đồng thể tích điện sinh học (bioisostere) của nhóm phosphate và khó bị thủy phân bởi enzyme esterase.

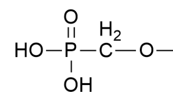
- Cidofovir (HPMPC): dẫn chất của deoxycytidine 5-monophosphate (dCTP). Là bột kết tinh màu trắng, độ tan trong nước ≥ 170 mg/mL ở pH 6-8.



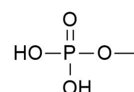
Cidofovir



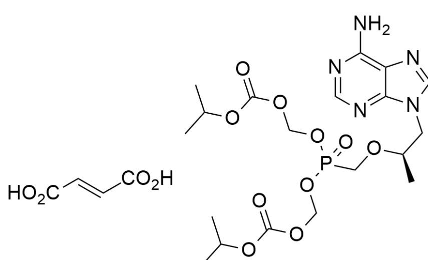
Adefovir dipivoxil



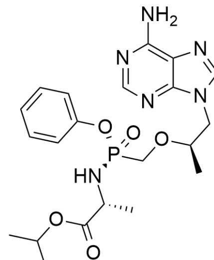
Nhóm phosphonate



Nhóm phosphate



Tenofovir disoproxil fumarate



Tenofovir alafenamide

Hình 7.23. Thuốc tương đồng nucleotide

- Adefovir dipivoxil (PMEA): tiền chất diester của adefovir, là chất tương tự nucleotide mạch hở của deoxyadenosine-5′-monophosphate (dAMP). Bột kết tinh màu trắng đến trắng nhạt với độ tan trong nước là 19 mg/mL ở pH 2.0 và 0.4 mg/mL ở pH 7.2.

- Tenofovir diisoproxil fumarate (TDF): tiền chất diester của tenofovir dưới dạng muối với fumaric acid, là chất tương tự nucleotide mạch hở của dAMP. Bột kết tinh màu trắng đến trắng nhạt với độ tan 13.4 mg/mL trong nước cất ở 25 °C.

- Tenofovir alafenamide (TAF): tiền chất alkylalanin amidate phenyl ester của tenofovir dưới dạng muối với fumaric acid. Bột màu trắng đến trắng nhạt với độ tan trong nước là 4.7 mg/mL ở 20 °C.

4.1.3.2. Cơ chế tác dụng - Phổ kháng virus - Sự đề kháng

Do chứa nhóm phosphonate mô phỏng nhóm phosphate của nucleotide tự nhiên, các thuốc trong nhóm không cần được hoạt hóa bởi thymidine kinase hoặc enzyme có chức năng tương tự của virus như trường hợp các thuốc tương đồng nucleoside. Các thuốc này sau đó sẽ được phosphoryl hóa bởi kinase của tế bào chủ thành dạng diphosphate có hoạt tính, ức chế polymerase của virus, và kết thúc quá trình tổng hợp chuỗi DNA của virus.

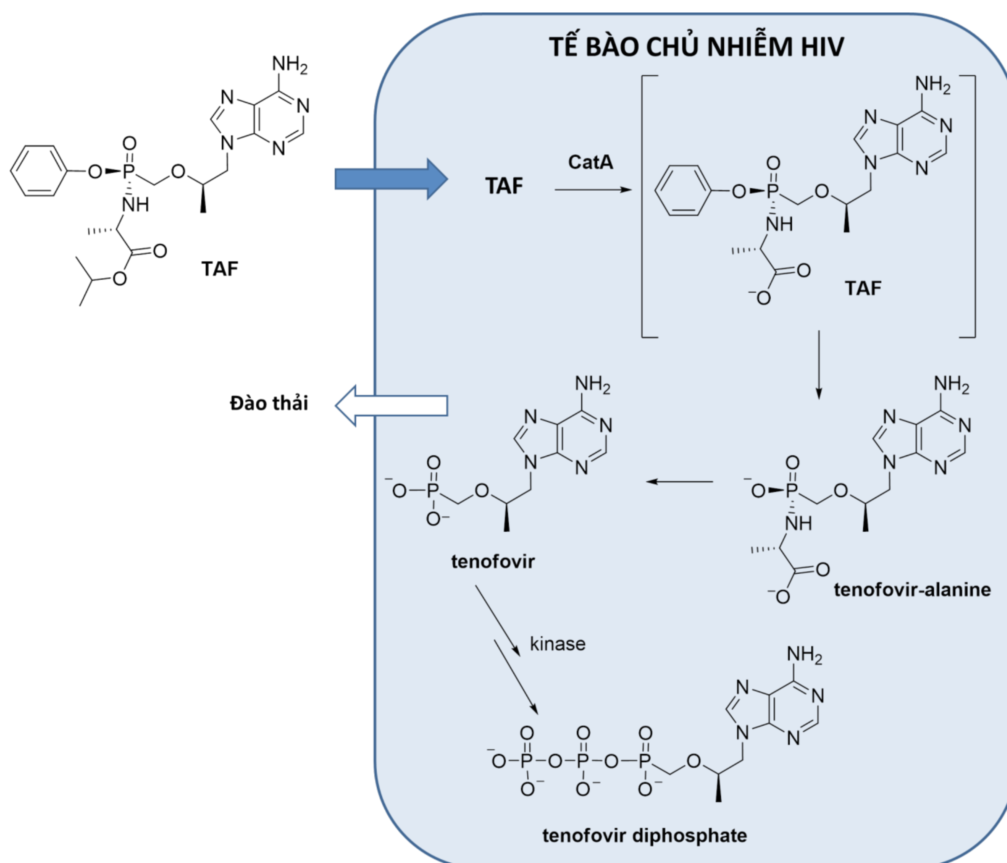
- Cidofovir: có hoạt tính trên virus herpes (HSV-1, HSV-2, VZV, CMV và EBV). Do quá trình phosphoryl hóa thành dạng có hoạt tính không phụ thuộc vào enzyme của virus, cidofovir có hoạt tính trên các chủng HSV đề kháng acyclovir do đột biến trên thymidine kinase và các chủng CMV đề kháng ganciclovir do đột biến trên UL97. Đồng thời, thuốc có ái lực cao hơn 25 - 50 lần trên polymerase của virus so với polymerase của tế bào chủ. Đề kháng với cidofovir liên quan đến đột biến trên polymerase của virus và thường ít xảy ra trên lâm sàng [1,38,42].

+ Adefovir dipivoxil: được thủy phân bởi esterase ngoại bào thành adefovir và tiếp theo đó được phosphoryl hóa thành dạng diphosphate bởi adenylate kinase của tế bào chủ. Adefovir diphosphate hoạt động như chất ức chế cạnh tranh với deoxyadenosine triphosphate (dATP) trên DNA polymerase của virus, dẫn đến kết thúc chuỗi DNA một khi được kết hợp vào chuỗi. Adefovir có hoạt tính trên HBV và HIV-1 (do cũng ức chế enzyme phiên mã ngược của HIV-1). Đề kháng với adefovir thường liên quan đến đột biến N236T và A181V trên polymerase của HBV. Mức độ đề kháng tăng theo thời gian sử dụng thuốc, do đó là một yếu tố hạn chế việc dùng thuốc lâu dài. Các chủng HBV với đột biến A181V cũng đề kháng với lamivudine [38].

+ Tenofovir disoproxil fumarate: tương tự như adefovir dipivoxil, sau khi được hoạt hóa thành dạng diphosphate, thuốc ức chế cạnh tranh với dATP trên polymerase của HBV và enzyme phiên mã ngược của HIV-1, dẫn đến kết thúc quá trình tổng hợp DNA của virus. Đồng thời, thuốc có hoạt tính chọn lọc trên polymerase của virus so với polymerase ở người. Đề kháng với tenofovir ở HBV có thể được tạo ra *in vitro* nhưng đến nay có vẻ không phải là một vấn đề trên lâm sàng. Đề kháng chính với tenofovir ở HIV chủ yếu do đột biến K65R trên enzyme phiên mã ngược của virus. Đồng thời, đột biến này liên quan đến đề kháng chéo với các thuốc ức chế enzyme phiên mã ngược tương đồng nucleoside khác (NRTI), ngoại trừ zidovudine [38,44].

- Tenofovir alafenamide: khác với TDF, TAF ít bị thủy phân bởi esterase ngoại bào trong huyết tương. Một khi được hấp thu vào tế bào (một cách thụ động), TAF được thủy phân bởi carboxypeptidase cathepsin A của lysosome (CatA) giải phóng nhóm carboxyl tự do. Sau đó phản ứng ái nhân của nhóm chức này lên nguyên tử phospho lập tức loại bỏ nhóm phenol tạo ra chất chuyển hóa trung gian tenofovir-alanine. Alanine sau đó được

loại bỏ thông qua thủy phân bởi enzyme hay hóa học để giải phóng tenofovir. Tenofovir tiếp tục được hoạt hóa thành dạng diphosphate ức chế polymerase của HBV và enzyme phiên mã ngược của HIV-1 (Hình 7.24) [45].



Hình 7.24. Cơ chế hoạt hóa tefonovir alafenamide [45]

4.1.3.3. Quan hệ cấu trúc - tác dụng [46]

Liên quan đến phần base:

- Đối với base pyrimidine: chỉ riêng dẫn chất của cytosine (cidofovir) có hoạt tính kháng virus, dẫn chất của uracil và thymine hầu như không có tác dụng. Các nhóm thế tại vị trí C5 (chloro, bromo, methyl, cyano) giúp tăng hoạt tính.

- Đối với base purine: dẫn chất của guanine và adenine đều có hoạt tính kháng virus, tuy nhiên, dẫn chất của guanine thường có độc tính cao hơn. Các nhóm thế tại vị trí C2 như alkyl, hydroxy, alkoxy, sulfanyl hay alkylsulfanyl làm mất hoạt tính. Ngược lại, nhóm thế amino tại vị trí này làm tăng hoạt tính. Đồng thời, nhóm amino tại vị trí C6 có vai trò quan trọng đối với hoạt tính.

Liên quan đến phần đường mạch hở và nhóm phosphonate:

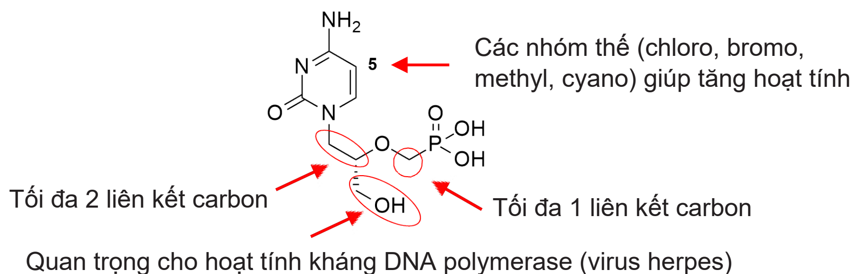
- Khoảng cách giữa nguyên tử phospho và nguyên tử oxygen ether: tối đa là một liên kết carbon, do đó, chỉ dẫn chất phosphonomethyl ether mới có hoạt tính.

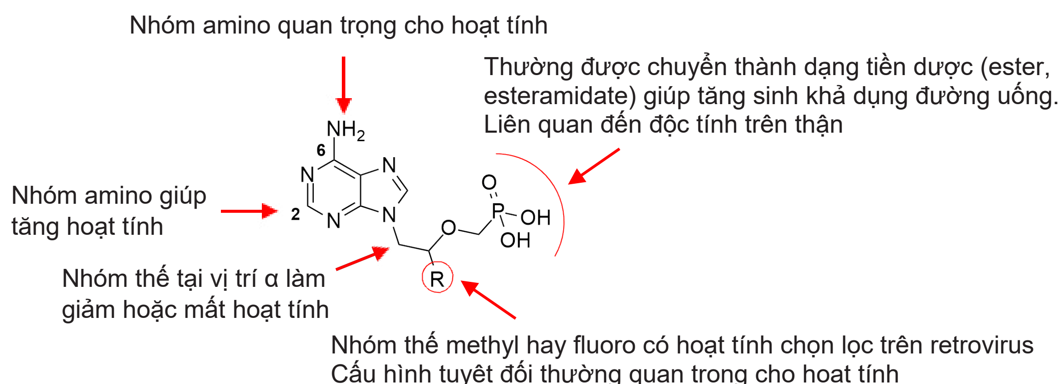
- Khoảng cách giữa nguyên tử nitrogen của phần base và nguyên tử oxygen ether: chỉ có thể tối đa là hai liên kết carbon.

- Nhóm thế tại vị trí alpha so với phần base làm giảm hoặc mất hoạt tính.

- Nhóm thế tại vị trí beta so với phần base: nhóm hydroxy methyl (cidofovir) có vai trò quan trọng trong hoạt tính kháng DNA polymerase (như các chủng virus herpes). Ngược lại, nhóm thế methyl (tenofovir) hay fluoro methyl có hoạt tính chọn lọc trên các chủng retrovirus (như HIV). Trong trường hợp của tenofovir, chỉ cấu hình *R* mới có hoạt tính và thay thế nhóm methyl bởi ethyl, propyl, isopropyl, cyclopropyl, benzyl hay phenyl làm mất hoạt tính.

+ Nhóm phosphonate: trong môi trường sinh lý tồn tại dưới dạng ion không thích hợp để vận chuyển thụ động qua màng tế bào. Do đó, thuốc trong nhóm thường được phát triển dưới dạng tiền dược (ester, esteramidate,...) giúp tăng sinh khả dụng đường uống. Liên quan đến độc tính trên thận của thuốc.





Hình 7.25. Tóm tắt quan hệ cấu trúc - tác dụng của các thuốc tương đồng nucleotide

4.1.3.4. Ứng dụng trong trị liệu - Dạng bào chế

Các chỉ định chính và dạng bào chế của các thuốc trong nhóm được tóm tắt trong Bảng 7.6 [38,42].

Bảng 7.6. Chỉ định chính và dạng bào chế của thuốc tương đồng nucleotide

Thuốc	Chỉ định	Dạng bào chế
Cidofovir	Điều trị viêm võng mạc do CMV ở bệnh nhân mắc hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải (AIDS).	Truyền tĩnh mạch (sinh khả dụng đường uống thấp do chứa nhóm phosphonate).
Adefovir dipivoxil	Điều trị viêm gan B mạn tính ở bệnh nhân từ 12 tuổi trở lên.	Đường uống (viên nén).
Tenofovir diisoproxil fumarate	Kết hợp với các thuốc kháng retrovirus khác trong điều trị nhiễm HIV-1 ở người lớn và bệnh nhi từ 2 tuổi trở lên. Điều trị viêm gan B mạn tính ở người lớn.	Đường uống (viên nén, bột dùng để pha uống).
Tenofovir alafenamide	Điều trị nhiễm viêm gan B mạn tính ở người lớn với xơ gan còn bù (compensated liver disease). Kết hợp với các thuốc kháng retrovirus khác trong điều trị nhiễm HIV-1 ở người lớn và bệnh nhi từ 12 tuổi trở lên.	Đường uống (viên nén).

4.1.3.5. Tác dụng phụ - Độc tính

- Cidofovir: độc tính trên thận là tác dụng phụ chính. Cidofovir tích tụ trong tế bào thận nhiều hơn gấp 100 lần so với các mô khác, do tăng hấp thu vào tế bào bởi protein vận chuyển anion hữu cơ ở thận (organic anion transporter – OAT), dẫn đến độc tính trên thận nghiêm trọng (biểu hiện qua protein niệu, đường niệu, nhiễm toan chuyển hóa, hội chứng Fanconi). Do đó, cần bù nước trước khi truyền tĩnh mạch và dùng chung với probenecid (thuốc ức chế OAT) [42,47].

- Adefovir dipivoxil: sử dụng lâu dài với liều cao có thể gây độc tính trên thận (với cơ chế tương tự cidofovir), tuy nhiên nguy cơ này thường thấp đối với bệnh nhân có chức năng thận bình thường [38,47].

- Tenofovir disoproxil fumarate: tương đối an toàn khi sử dụng trong thời gian dài. Có thể có độc tính trên thận và tủy xương. Tương tự như các thuốc ức chế enzyme phiên mã ngược, tình trạng nhiễm lactic acid và gan to kèm theo nhiễm mỡ có thể xảy ra khi sử dụng TDF [44].

- Tenofovir alfenamide: ít độc tính trên thận và tủy xương hơn so với TDF do nồng độ tenofovir trong huyết tương thấp hơn. Tuy nhiên, TAF có thể liên quan đến tăng lipid, tăng glucose lúc đói và tăng nguy cơ nhồi máu cơ tim, tiểu đường và hội chứng chuyển hóa so với TDF [44].

4.1.3.6. Dược động học - Tương tác thuốc

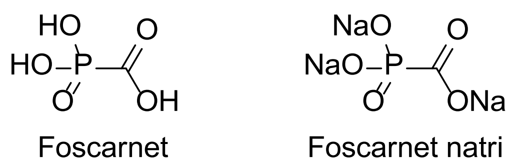
- Cidofovir: sinh khả dụng đường uống thấp (< 5%). Thời gian bán thải trong huyết tương của thuốc khoảng 2.6 giờ. Cidofovir được đào thải qua thận qua quá trình lọc ở cầu thận và bài tiết tích cực ở ống thận. Hơn 90% liều dùng được bài tiết nguyên vẹn. Không sử dụng chung với các thuốc có độc tính trên thận khác hay các thuốc có tương tác với probenecid.

- Adefovir dipivoxil: được hấp thu nhanh chóng qua đường uống. Sinh khả dụng đường uống (sau một liều duy nhất) khoảng 59%. Thức ăn không ảnh hưởng đáng kể đến sự hấp thu của thuốc. Thời gian bán thải khoảng 7 giờ. Adefovir được bài tiết nguyên vẹn qua thận thông qua bài tiết ở ống thận và lọc ở cầu thận.

- Tenofovir disoproxil fumarate: sau khi uống, TDF được hấp thu nhanh chóng và chuyển hóa thành tenofovir. Sinh khả dụng qua đường uống khoảng 25% ở bệnh nhân lúc đói hoặc sau bữa ăn nhẹ và khoảng 39% sau bữa ăn giàu chất béo. Thời gian bán thải của tenofovir khoảng 17 giờ. Khoảng 70% đến 80% liều tenofovir được bài tiết dưới dạng không đổi qua nước tiểu thông qua bài tiết ở ống thận và lọc ở cầu thận.

- Tenofovir alafenamide: dạng tiền chất ổn định hơn trong huyết tương so với TDF và chỉ được chuyển hóa thành tenofovir trong tế bào. Đồng thời, mức độ phân bố vào mô bạch huyết của TAF cao hơn so với TDF *in vivo*. Sinh khả dụng tăng lên khoảng 65% sau bữa ăn nhiều chất béo, do đó TAF được khuyến cáo nên uống cùng với thức ăn. TAF cũng như TDF là cơ chất của BCRP/ABCG2 và P-glycoprotein/ABCB1. Các thuốc có ảnh hưởng quan trọng đến hoạt động của P-glycoprotein và BCRP có thể ảnh hưởng đến sự hấp thu của TAF. Liều dùng của TAF thấp hơn so với TDF và hoạt tính dược lý của TAF phụ thuộc vào sự chuyển hóa trong tế bào thay vì trong huyết tương, do đó tương tác thuốc trên lâm sàng liên quan đến P-glycoprotein dễ xảy ra hơn khi sử dụng TAF.

4.1.4. Thuốc không tương đồng nucleoside (Non-nucleoside analogs)



Hình 7.26. Cấu trúc foscarnet và dạng muối foscarnet natri

Foscarnet natri là dạng muối trisodium của foscarnet - phosphonoformic acid, chất này ức chế DNA polymerase của virus herpes bao gồm CMV và retrovirus RT. Chất này

không cần phosphoryl hóa thành dạng có hoạt tính bởi enzyme tế bào chủ nhiễm virus. Vì vậy, nó có lợi điểm là không cần bước hoạt hóa trước khi tấn công polymerase của virus.

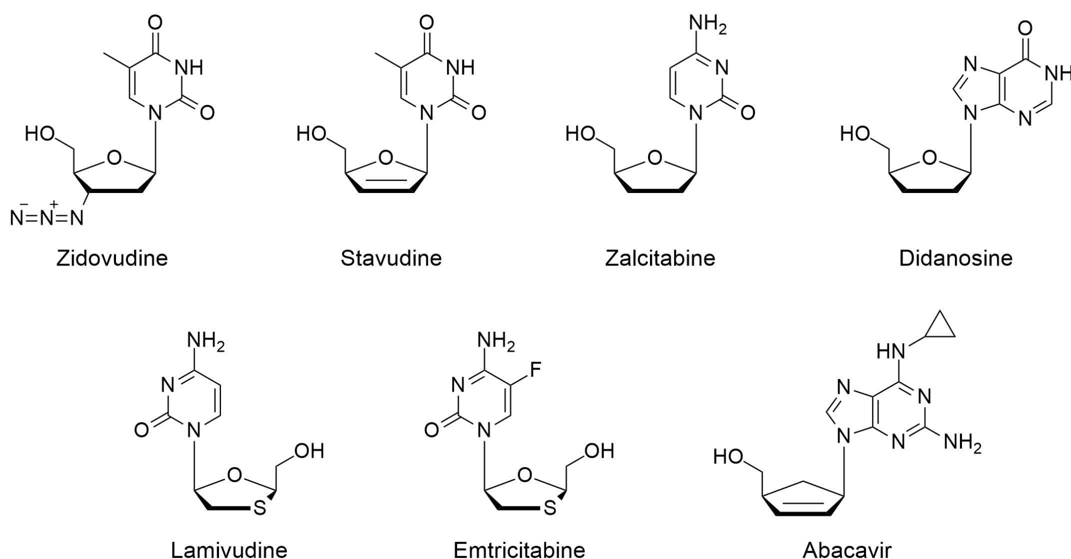
Sử dụng lâm sàng

Foscarnet natri được chấp thuận trong điều trị viêm võng mạc do CMV ở bệnh nhân AIDS. Kết hợp với ganciclovir cho kết quả hứa hẹn, ngay cả trong trường hợp bệnh tiến triển đề kháng với ganciclovir. Foscanet natri cũng hiệu quả trong điều trị bệnh ở màng nhầy gây bởi HSV và VZV đề kháng acyclovir. Foscarnet natri được dùng qua IV (60 mg/kg) ba lần/ngày trong điều trị khởi đầu và 90 - 120 mg/kg/ngày trong điều trị duy trì. $T_{1/2}$ huyết tương là 3 - 6 giờ. Foscarnet natri ngấm qua dịch não tủy và mắt. Thuốc có độc tính trên thần kinh. Tác dụng phụ có hại bao gồm viêm tĩnh mạc, thiếu máu, nôn mửa, buồn nôn và tai biến. Foscarnet natri gây nguy cơ giảm calci niệu nghiêm trọng, đặc biệt khi dùng đồng thời với pentamidin IV. Foscarnet natri được dùng với zidovudine (ZDV) có tác dụng cộng hợp chống CMV và tác động đồng vận chống HIV. Dạng thuốc tiêm 2.4 g/mL [1].

4.2. Thuốc ức chế enzyme phiên mã ngược tương đồng nucleoside (Nucleoside reverse transcriptase inhibitors – NRTI)

4.2.1. Cấu trúc - Tính chất

Cấu trúc của các thuốc NRTI tương tự với nucleoside, với những thay đổi trong phần đường và phần base. Tất cả các thuốc NRTI sử dụng trên lâm sàng hiện nay đều thiếu nhóm 3′-OH trong phần đường cần thiết cho sự hình thành liên kết phosphodiester, liên quan đến hoạt tính của thuốc. Nhóm 3′-OH có thể không có trong cấu trúc hoặc được thay thế bởi một nhóm thế khác (Hình 7.27).



Hình 7.27. Các thuốc ức chế enzyme phiên mã ngược tương đồng nucleoside (NRTI)

- Zidovudine (AZT): cấu trúc tương đồng thymidine với nhóm thế azide tại vị trí 3'-OH. Bột kết tinh màu trắng đến trắng ngà. Độ tan trong nước ở 25 ºC là 20.1 mg/mL. Nhạy cảm với nhiệt độ và ánh sáng (do chứa nhóm azide), do đó cần bảo quản trong lọ tối màu từ 15 - 25 ºC.

- Stavudine (d4T): tương đồng thymidine với liên kết đôi giữa carbon 2' và 3' của phần đường. Bột kết tinh màu trắng đến trắng ngà. Độ tan trong nước ở 23 ºC khoảng 83 mg/mL và trong propylene glycol khoảng 30 mg/mL. Hệ số phân tán *n*-octanol/nước ở 23 ºC là 0.144.

- Zalcitabine (ddC): tương đồng cytidine. Hiện FDA đã rút ra khỏi thị trường ở Mỹ do độc tính thần kinh.

- Lamivudine (3-TC): đồng phân quang học L tương đồng cytidine (so với đồng phân D của nucleoside tự nhiên), với nguyên tử carbon tại vị trí 3' của phần đường được thay thế bởi nguyên tử lưu huỳnh. Bột kết tinh màu trắng đến trắng ngà với độ tan trong nước khoảng 70 mg/mL ở 20 ºC.

- Emtricitabine (FTC): cấu trúc tương tự với lamivudine với điểm khác biệt là nhóm fluor tại vị trí C5 của phần base. Bột màu trắng đến trắng ngà với độ tan trong nước ở 25 ºC khoảng 112 mg/mL, logP là -0.43 và pK_a là 2.65.

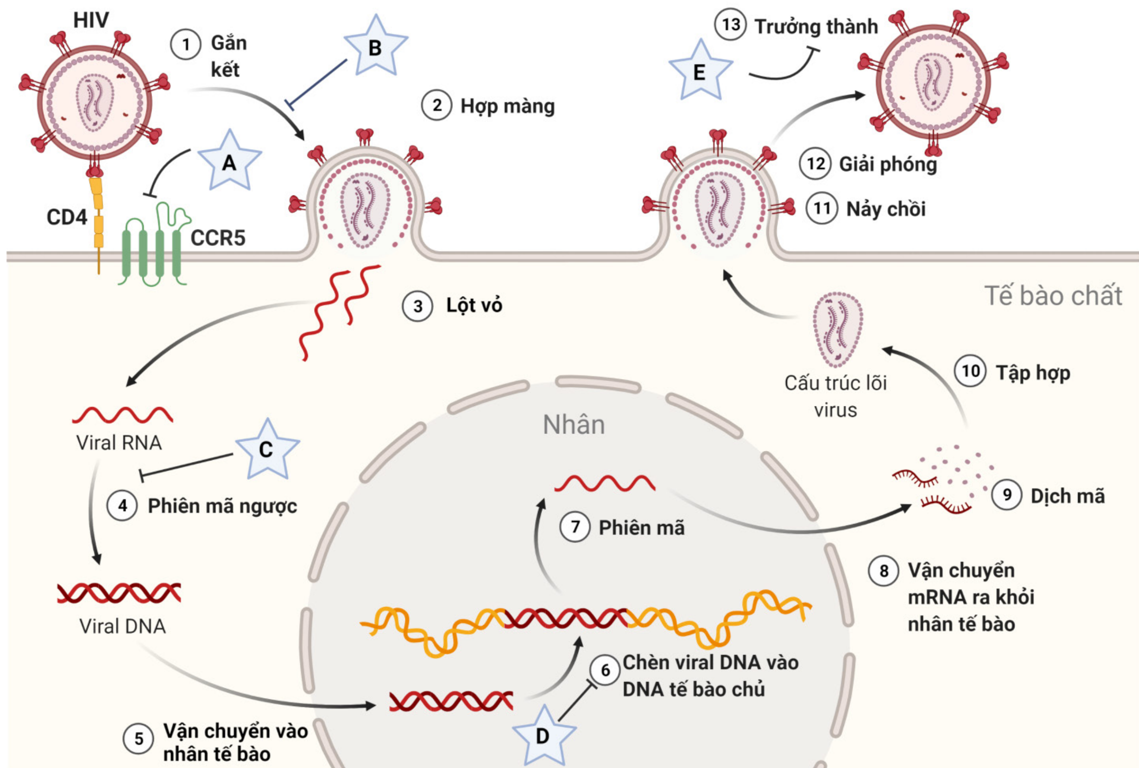
- Didanosine (ddI): tương đồng inosine. Bột kết tinh màu trắng với độ tan trong nước ở 25 ºC và pH 6 là 27.3 mg/mL. Không bền trong dung dịch acid (ví dụ ở pH < 3 ở 37 ºC, 10% didanosine bị phân hủy thành hypoxanthine trong vòng ít hơn 2 phút).

- Abacavir (ABC): tương đồng guanosine với nhóm thế cyclopropylamino trên nguyên tử C6 của phần base. Phần đường được thay thế bởi vòng cyclopentene. Abacavir (dưới dạng sulfate) là bột màu trắng đến trắng ngà với độ tan trong nước khoảng 77 mg/mL ở 25 ºC, logP (ở pH 7.1 - 7.3) khoảng 1.2 ở 25 ºC.

4.2.2. Cơ chế tác dụng - Phổ kháng virus - Sự đề kháng

Các thuốc NRTI có hoạt tính ức chế enzyme phiên mã ngược của virus HIV-1. HIV-1 thuộc họ retrovirus với bộ gen là một sợi đơn (+) RNA. Quá trình nhân lên của virus diễn ra qua một số bước đặc trưng (Hình 7.28). Sau khi gắn kết lên tế bào chủ qua trung gian thụ thể CD4 và đồng thụ thể CXCR4, CCR5 (1), quá trình hợp màng diễn ra (2), giải phóng capsid của virus vào tế bào chất nơi virus lột vỏ (3). Enzyme phiên mã ngược (RT) tổng hợp bản sao DNA sợi đôi của bộ gen virus (4), sợi DNA này kết hợp với một số protein của virus và của tế bào chủ tạo ra phức hợp tiền tích hợp (pre-integration complex – PIC). Phức hợp này sau đó được vận chuyển tích cực vào nhân tế bào chủ (5) nơi enzyme integrase (IN) xúc tác quá trình chèn DNA của virus vào chất nhiễm sắc của tế bào chủ (6). Tiếp theo, quá trình phiên mã diễn ra (7) và mRNA của virus được vận chuyển ra khỏi nhân tế bào (8), cho phép quá trình dịch mã tạo ra protein của virus (9).

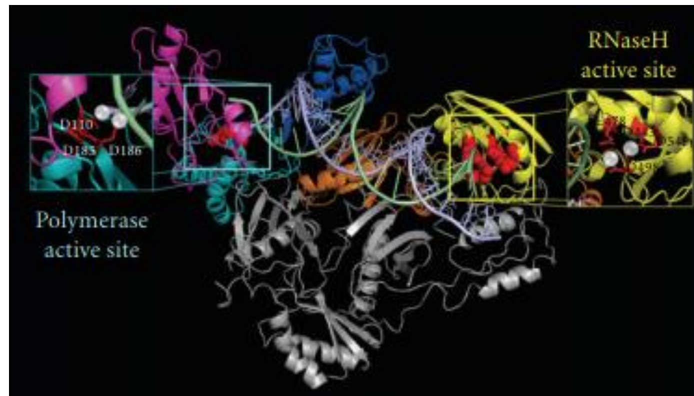
Các protein này tập hợp lại (10) trong các virion nảy chồi trên màng tế bào (11). Virion được giải phóng khỏi tế bào (12) và trưởng thành thông qua quá trình phân giải bởi protease của virus (13) tạo ra các virus có khả năng lây nhiễm mới [48].



Hình 7.28. Chu kì nhân lên của virus HIV-1 và các nhóm thuốc kháng HIV-1 tương ứng [48] (hình được vẽ bởi Biorender.com)

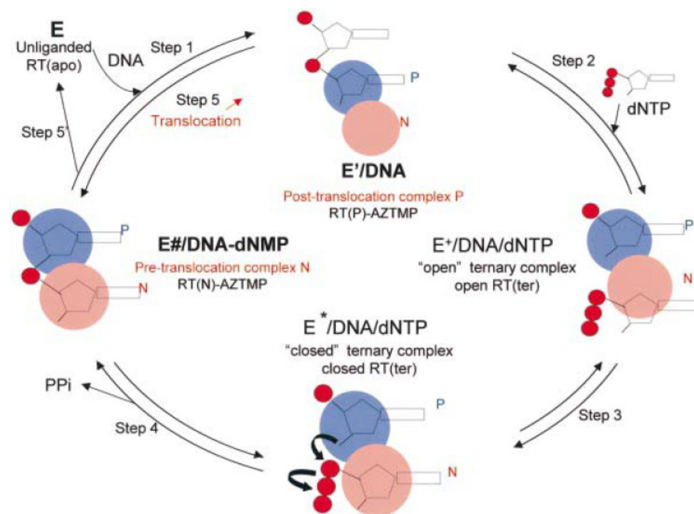
(A = CCR5 inhibitors, B = fusion inhibitors, C = NRTI và NNRTI, D = integrase inhibitors, E = protease inhibitors)

Enzyme phiên mã ngược của HIV-1 cấu tạo bởi hai tiểu đơn vị với chiều dài khác nhau: p66 và p51. Cấu trúc kết tinh của enzyme này cho thấy p66 bao gồm hai vùng cách biệt trong không gian: vùng polymerase và vùng RNase H (Hình 7.29). Vùng polymerase có cấu trúc giống như bàn tay phải, bao gồm vùng các ngón tay (amino acid 1-85 và 118-155), vùng lòng bàn tay (amino acid 86-117 và 156-237) và vùng ngón cái (amino acid 238-318). Tiểu đơn vị p51 cũng có cấu trúc bàn tay nhưng với vị trí tương đối khác so với p66 và không có vùng RNAse H. p51 không có hoạt tính enzyme và đóng vai trò cố định cấu dạng của p66 [49]. Vị trí xúc tác polymerase (active site) nằm ở giữa ba vùng: ngón tay, lòng bàn tay và ngón cái, bao gồm ba amino acid - aspartic acid (D110, D185 và D186) liên kết với hai ion Mg^{2+}. Vùng RNase H nằm ở đầu cuối C của tiểu đơn vị p66, có vị trí xúc tác chứa mô típ DDE (bao gồm các amino acid chứa gốc carboxylate D443, E478, D498 và D549) liên kết với hai ion Mg^{2+}.



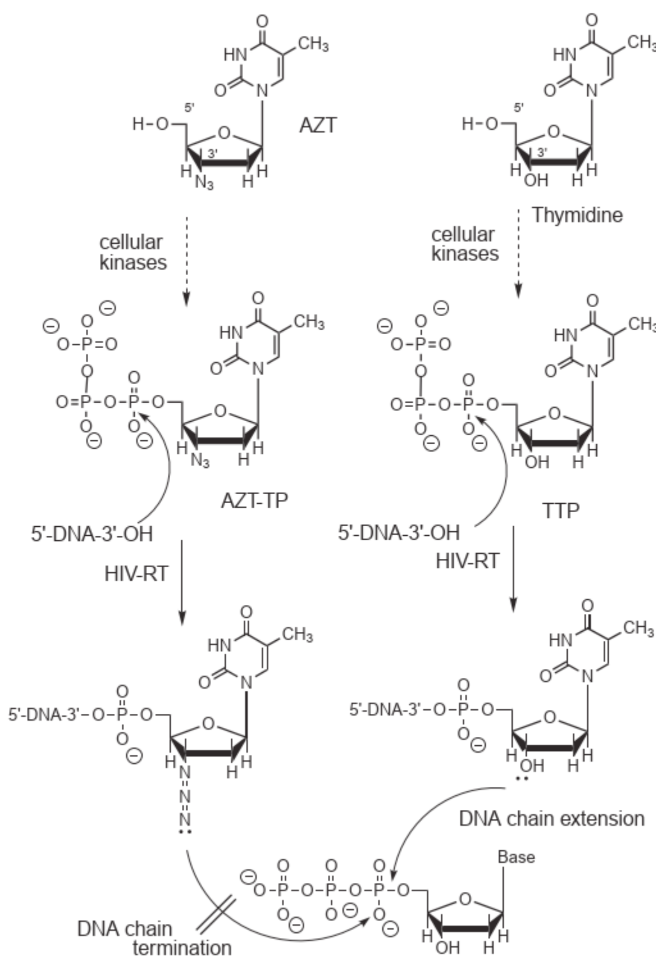
Hình 7.29. Cấu trúc enzyme phiên mã ngược của HIV-1 với hai tiểu đơn vị p66 (màu tím: vùng các ngón tay, màu xanh lam: vùng lòng bàn tay, màu xanh dương: vùng ngón cái, màu vàng: vùng RNAse H, màu cam: vùng nối) và p51 (màu xám) [49]

Quá trình tổng hợp DNA bởi enzyme phiên mã ngược bắt đầu bằng sự gắn kết của enzyme vào phức hợp khuôn mẫu/đoạn mồi tại vị trí gắn mồi (priming binding site – P). Sự tương tác này được ổn định bởi sự thay đổi cấu dạng của vùng ngón cái (từ cấu dạng đóng sang mở). Sau đó, nucleotide triphosphate (dNTP) gắn vào vị trí gắn nucleotide trên enzyme (nucleotide binding site – N) tạo phức hợp bậc ba enzyme/DNA/dNTP. Cấu dạng của vùng các ngón tay sau đó thay đổi để định hướng nhóm α-phosphate của dNTP và nhóm 3’-OH của đoạn mồi vào bên trong vị trí xúc tác của enzyme. Trong điều kiện này, enzyme xúc tác sự hình thành liên kết phosphodiester và giải phóng pyrophosphate (PPi). Tiếp theo, đoạn mồi DNA mới được kéo dài này dịch chuyển vị trí, giải phóng vị trí gắn nucleotide cho dNTP tiếp theo và quá trình tổng hợp DNA tiếp diễn hoặc enzyme có thể phân ly khỏi phức hợp (Hình 7.30) [49].



Hình 7.30. Sơ đồ minh họa quá trình tổng hợp DNA bởi enzyme phiên mã ngược của HIV-1 (nhóm phosphate được biểu diễn bằng hình tròn tối màu) [50]

Các thuốc NRTI được chuyển hóa thành dạng triphosphate có hoạt tính bởi enzyme của tế bào chủ và sau đó được enzyme phiên mã ngược của virus gắn vào DNA trong quá trình tổng hợp (do có cấu trúc tương đồng với nucleotide tự nhiên). Tuy nhiên, do thiếu nhóm 3'-OH trong phần đường, một khi được chèn vào DNA, các thuốc NRTI ngăn cản sự hình thành liên kết phosphodiester cần thiết cho quá trình kéo dài chuỗi và như vậy kết thúc quá trình tổng hợp DNA, ức chế quá trình phát triển của virus (Hình 7.31). Đồng thời, các thuốc NRTI có tính chọn lọc nhất định trên enzyme của virus so với polymerase của tế bào chủ. Didanosine và abacavir cần được chuyển hóa bổ sung trên phần base thành dạng có hoạt tính tương ứng dideoxyadenosine triphosphate và carbovir triphosphate.



Hình 7.31. Cơ chế hoạt hóa và tác động của zidovudine [1]

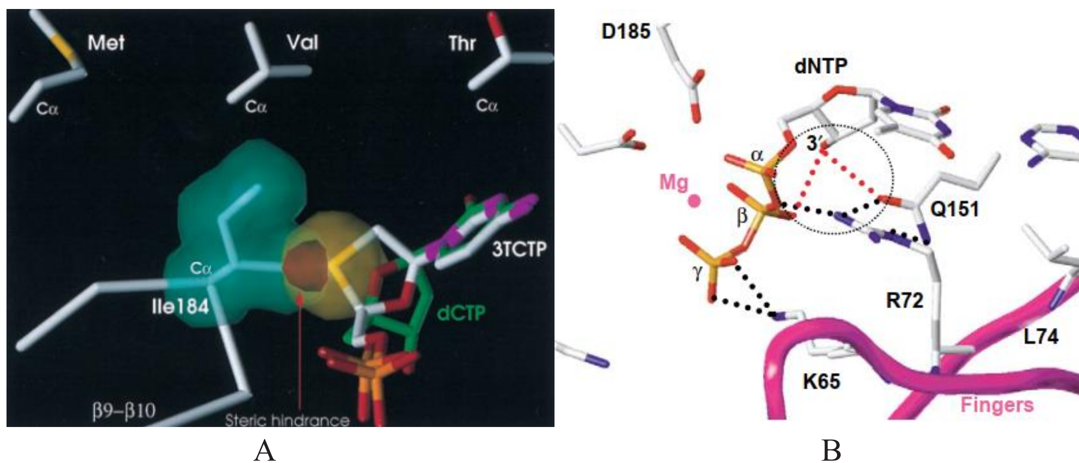
Đề kháng với NRTI liên quan đến đột biến trên enzyme phiên mã ngược của virus dưới áp lực sử dụng thuốc. Đề kháng có thể xảy ra chỉ với một đột biến đơn lẻ (như trường hợp của lamivudine) hoặc có thể là kết quả từ tích lũy một vài đột biến (như biến thể kháng zidovudine). Đến nay ít nhất có hai cơ chế đề kháng với NRTI được biết đến: đề kháng phân biệt (discrimination) và đề kháng loại bỏ (excision) [51].

- Đề kháng phân biệt

Trong trường hợp này, đột biến trên enzyme làm giảm khả năng tương tác với thuốc, từ đó giảm mức độ gắn kết thuốc vào chuỗi DNA được tổng hợp. Các đột biến này bao gồm: M184V/I, K65R, L74V, Q151M, Y115F và V75I.

Đột biến M184V/I dẫn đến mức độ đề kháng cao đối với các thuốc NRTI với cấu dạng L (lamivudine và emtricitabine) do cản trở không gian. Methionine M184 nằm trong vị trí xúc tác của enzyme gần với các đơn vị aspartate D185 và D186. Sự thay thế amino acid này bằng các amino acid phân nhánh β (valine, isoleucine và threonine) dẫn đến cản trở trong không gian với vòng L-oxathiolane của thuốc (Hình 7.32A), do đó giảm đáng kể tốc độ tích hợp thuốc vào chuỗi DNA, giảm khả năng ức chế sự kéo dài chuỗi.

Các amino acid Q151, K65 và L74 của enzyme phiên mã ngược tham gia vào mạng lưới liên kết hydro với nucleotide triphosphate chuẩn bị được kết hợp vào chuỗi DNA (Hình 7.32B). Do đó, đột biến tại các vị trí này làm gián đoạn một phần tương tác với nucleotide, đặc biệt đối với các thuốc NRTI so với nucleotide tự nhiên (do thiếu nhóm 3′-OH), ảnh hưởng nhiều hơn đến quá trình kết hợp thuốc vào DNA.



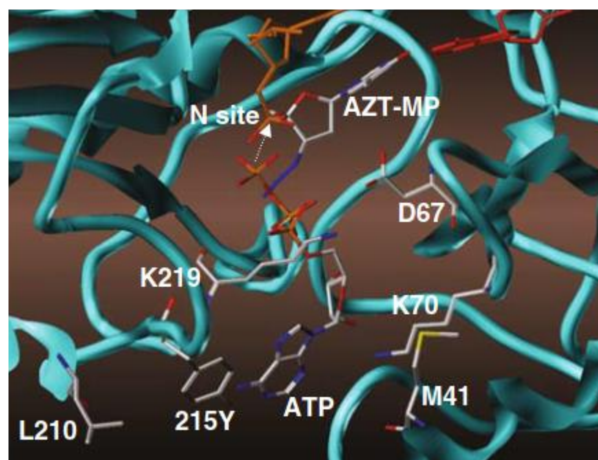
A B

Hình 7.32. A. Sơ đồ minh họa sự cản trở không gian giữa I184 và lamivudine triphosphate (3TCTP), so sánh với cytidine triphosphate tự nhiên dCTP [52]
B. Tương tác giữa enzyme phiên mã ngược và nucleotide triphosphate (dNTP) [51]

- Đề kháng loại bỏ

Trong cơ chế này, đột biến trên enzyme không ảnh hưởng đến mức độ kết hợp thuốc vào chuỗi DNA mà liên quan đến khả năng loại bỏ thuốc khỏi DNA bằng sự phân giải liên kết phosphodiester, sử dụng ATP như nguồn cung cấp pyrophosphate (phản ứng ngược lại với phản ứng polymerase), cho phép tiếp tục quá trình tổng hợp DNA của virus. Đề kháng với zidovudine và stavudine thường thuộc cơ chế này, liên quan đến một loạt các đột biến: M41L, D67N, K70R, T215Y/F và K219E/Q (thường được gọi là thể đột biến

AZT-R). Các đột biến này cách xa vị trí gắn nucleotide (N site) và không ảnh hưởng đến quá trình liên kết với thuốc hay kết hợp thuốc vào DNA. Ngược lại, chúng chủ yếu tạo điều kiện cho sự liên kết và định hướng ATP. Tương tác giữa vòng purine của ATP với vòng thơm của amino acid 215Y/F trong thể đột biến định vị nhóm γ-phosphate của ATP đến gần với nhóm phosphate liên kết hai nucleotide nằm cuối đoạn mồi, tạo thuận lợi cho phản ứng phân giải phosphodiester (Hình 7.33).



Hình 7.33. Mô hình cấu trúc của enzyme đột biến 215Y gắn với phức hợp zidovudine (AZT-MP)/ đoạn mồi và một phân tử ATP [53]

Ngoài ra, đề kháng loại bỏ còn có thể liên quan đến đột biến chèn phức hợp 69 (69 insertion complex) bao gồm thay thế threonine ở vị trí 69 bằng serine đồng thời thêm vào hai hay nhiều hơn amino acid (thường là SS, SA hay SG) giữa vị trí 69 và 70.

4.2.3. Quan hệ cấu trúc - tác dụng

Phần base: mức độ tương đồng với nucleotide tự nhiên có thể liên quan đến tốc độ phosphoryl hóa thành dạng có hoạt tính và khả năng tích hợp vào chuỗi DNA của virus, do đó liên quan đến hiệu quả của thuốc [54].

Lamivudine và emtricitabine: cấu dạng L khác với nucleoside tự nhiên có thể liên quan đến tính chọn lọc trên enzyme phiên mã ngược so với polymerase của tế bào chủ (do khác biệt về phương thức gắn kết với enzyme), do đó liên quan đến độc tính giảm của thuốc [55]. Nhóm thế fluor ở vị trí C5 có thể tăng khả năng tích hợp vào DNA của virus [56,57].

4.2.4. Ứng dụng trong trị liệu - Dạng bào chế

Các chỉ định chính và dạng bào chế của các thuốc trong nhóm được tóm tắt trong Bảng 7.7.

Bảng 7.7. Chỉ định chính và dạng bào chế của thuốc NRTI

Thuốc	**Chỉ định**	**Dạng bào chế**
Zidovudine	Điều trị nhiễm HIV-1 kết hợp với các thuốc kháng retrovirus khác. Dự phòng lây truyền HIV-1 từ mẹ sang thai nhi.	Đường uống: viên nén, viên nang, sirô. Đường tiêm IV.
Stavudine	Điều trị nhiễm HIV-1 kết hợp với các thuốc kháng retrovirus khác.	Viên nang, dung dịch uống.
Lamivudine	Điều trị nhiễm HIV-1 kết hợp với các thuốc kháng retrovirus khác.	Viên nén, dung dịch uống.
Emtricitabine	Điều trị nhiễm HIV-1 kết hợp với các thuốc kháng retrovirus khác.	Viên nang, dung dịch uống.
Didanosine	Điều trị nhiễm HIV-1 kết hợp với các thuốc kháng retrovirus khác.	Bột pha dung dịch uống. Viên bao tan trong ruột (hạn chế phân hủy bởi acid dạ dày).
Abacavir	Điều trị nhiễm HIV-1 kết hợp với các thuốc kháng retrovirus khác.	Viên nén, dung dịch uống.

4.2.5. Tác dụng phụ - Độc tính

NRTI được phosphoryl hóa thành dạng có hoạt tính trong tất cả các tế bào chủ, không chỉ trong tế bào nhiễm virus, đồng thời do cấu trúc tương đồng nucleotide tự nhiên nên có thể dẫn đến độc tính, đặc biệt là độc tính trên ty thể. Ty thể hiện diện trong mọi loại tế bào (ngoại trừ hồng cầu), điều hòa quá trình trao đổi chất của tế bào và mô thông qua phosphoryl-oxy hóa ATP (năng lượng của tế bào). DNA của ty thể (mtDNA) được sao chép bởi polymerase γ. Các thuốc NRTI có thể ức chế polymerase γ, cản trở tổng hợp mtDNA, dẫn đến sản xuất không đủ năng lượng và rối loạn chức năng ty thể. Ngoài ra, NRTI can thiệp vào các chức năng khác của ty thể, gây tổn thương oxy hóa, ức chế các enzyme trong ty thể, ảnh hưởng đến tổng hợp ATP và có thể dẫn đến chết tế bào (apoptosis). Trên lâm sàng, rối loạn chức năng ty thể do NRTI dẫn đến các tác dụng phụ như rối loạn chức năng ống thận gần, gan nhiễm mỡ, nhiễm lactic acid, viêm tụy, bệnh cơ tim, bệnh cơ và bệnh thần kinh ngoại biên [54].

4.2.6. Dược động học - Tương tác thuốc

Nhìn chung, phần lớn NRTI bị phân hủy bởi enzyme của gan thành uric acid (đối với base purine) hay thành các dẫn chất đơn giản hơn như amino acid β (đối với base pyrimidine). Ngoài ra, khi NRTI khi không được hấp thu toàn thân sẽ được thải trừ qua thận thông qua khuếch tán hoặc vận chuyển chủ động [54].

Bảng 7.8. Một số thông số dược động học của các thuốc NRTI [1,54]

Thuốc	Sinh khả dụng	$T_{1/2}$ trong huyết tương
Zidovudine	Khoảng 65%	Khoảng 2 giờ
Stavudine	76 - 86%	7 giờ
Lamivudine	Khoảng 86%	22 giờ
Emtricitabine	75 - 93%	37 giờ
Didanosine	25 - 42%	2.3 giờ
Abacavir	Khoảng 83%	Khoảng 3.3 giờ

4.2.7.Kiểm nghiệm [31,58]

Bảng 7.9. Phương pháp kiểm nghiệm của một số thuốc NRTI

Thuốc	Định tính	Định lượng	Tạp chất liên quan
Zidovudine	Phổ hấp thụ hồng ngoại Góc quay cực riêng	Sắc ký lỏng	Từ quá trình tổng hợp và phân hủy thuốc (thymine).
Stavudine	Phổ hấp thụ hồng ngoại Góc quay cực riêng	Sắc ký lỏng	Từ quá trình tổng hợp và phân hủy thuốc (thymine).
Lamivudine	Phổ hấp thụ hồng ngoại Góc quay cực riêng Độ tinh khiết quang học	Sắc ký lỏng	Từ quá trình tổng hợp và phân hủy thuốc (cytosine).
Didanosine	Phổ hấp thụ hồng ngoại Góc quay cực riêng	Chuẩn độ đo điện thế bằng dung dịch perchloric acid 0.1 M.	Từ quá trình tổng hợp và phân hủy thuốc (hypoxanthine).
Abacavir sulfate	Phổ hấp thụ hồng ngoại Độ tinh khiết quang học	Chuẩn độ đo điện thế bằng dung dịch NaOH 0.1 M.	Từ quá trình tổng hợp thuốc.

4.3. Thuốc ức chế enzyme phiên mã ngược không tương đồng nucleoside (Nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors – NNRTI)

4.3.1. Cấu trúc - Tính chất

Ngược lại với NRTI, các thuốc NNRTI có cấu trúc đa dạng hơn nhiều và cho phép nhiều khả năng phát triển thuốc kháng virus mới hơn [59]. Đến nay, FDA phê duyệt sáu NNRTI bao gồm (Hình 7.34): nevirapine, efavirenz, delavirdine (thế hệ đầu), etravirine, rilpivirine (thế hệ thứ hai) và doravirine (thế hệ thứ ba). Tính chất chung của NNRTI chủ yếu là thân dầu và không ion hóa ở pH sinh lý [60].

- Nevirapine (NVP): thuộc nhóm cấu trúc dipyridodiazepinone. Bột kết tinh trắng đến trắng ngà. Ít tan trong nước (0.1 mg/mL), logP = 3.89. Là base yếu (pK_a = 2.8) do đó độ tan trong nước phụ thuộc vào pH.

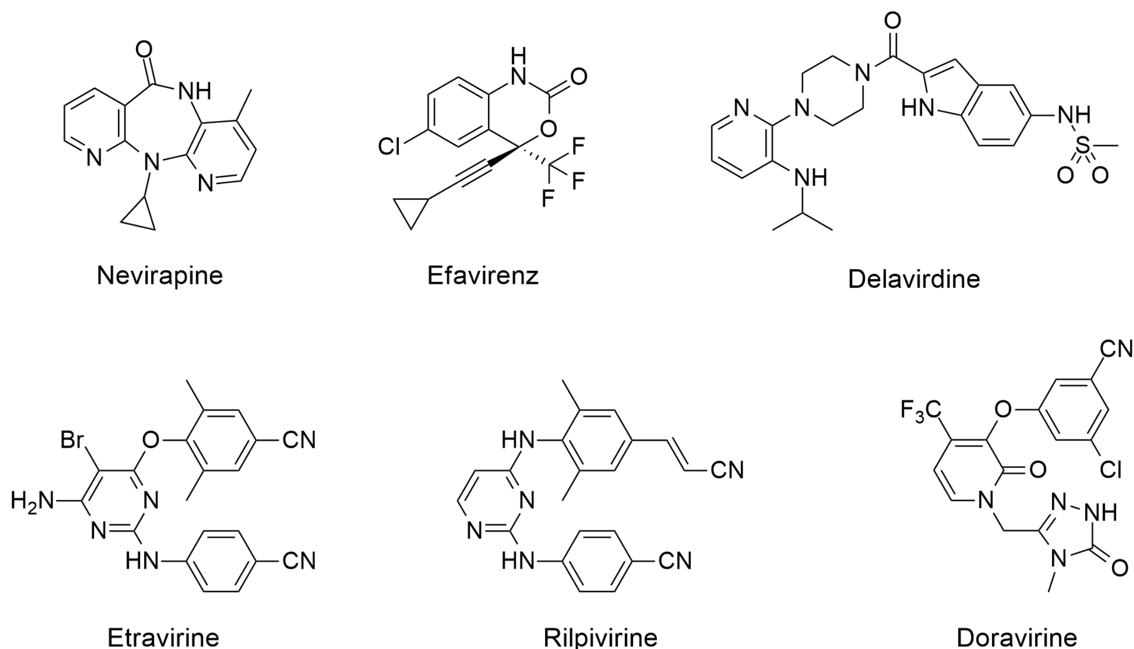
- Delavirdine (DLV): thuộc nhóm cấu trúc bis(heteroaryl)piperazine. Tuy nhiên, delavirdine hiện đã ngưng sản xuất ở Mỹ (lý do chiến lược kinh doanh, không liên quan đến tác dụng phụ hay độc tính của thuốc).

- Efavirenz (EFV): thuộc nhóm cấu trúc benzoxazinone. Bột kết tinh màu trắng đến hồng nhạt. Gần như không tan trong nước (<10 µg/mL ở 25 ºC với pH 8.3), logP = 5.4. Là acid yếu (pK_a = 10.2).

- Etravirine (ETR): thuộc nhóm cấu trúc dirarylpyrimidine (DAPY). Bột màu trắng đến vàng nâu nhạt. Gần như không tan trong nước, rất ít tan trong propylene glycol và ít tan trong ethanol. Tính thân dầu cao với logP = 5.2 và pK_a = 3.5. Tan trong polyethylene glycol (PEG)400 và trong một số dung môi hữu cơ (như *N*,*N*-dimethylformamide và tetrahydrofuran).

- Rilpivirine (RPV): thuộc nhóm cấu trúc dirarylpyrimidine (DAPY). Dạng muối hydrochloride là bột màu trắng đến gần trắng. Gần như không tan trong nước với pK_a = 5.6 và logP = 4.86 (giữa 1-octanol và dung dịch đệm phosphate pH 7).

- Doravirine (DOR): thuộc nhóm cấu trúc diaryl ether. Gần như không tan trong nước (2.73 mg/L ở pH 7), hệ số phân tán phân tán *n*-octanol/nước (log K_{ow}) là 2.08 (pH 7).

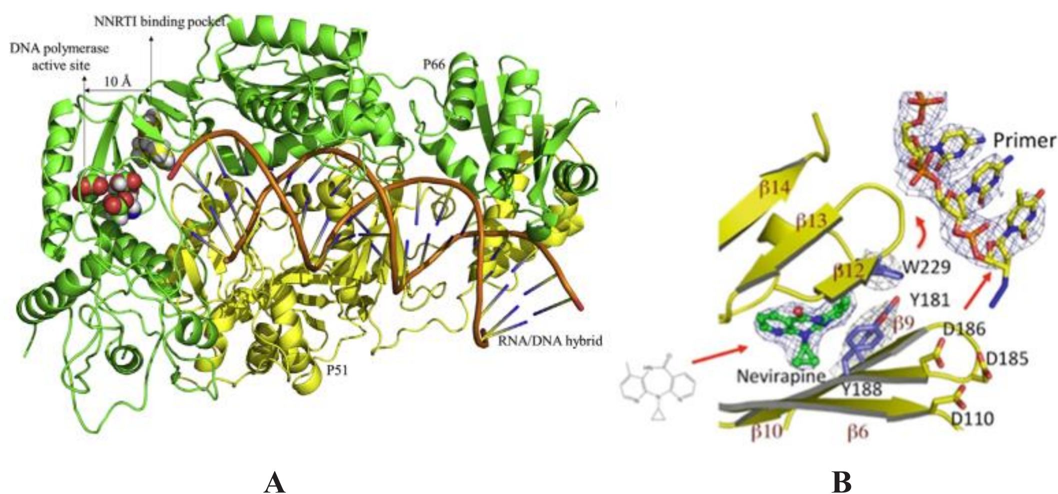


Hình 7.34. Cấu trúc các thuốc ức chế enzyme phiên mã ngược không tương đồng nucleoside

4.3.2. Cơ chế tác dụng - Phổ kháng virus - Sự đề kháng

Các thuốc NNRTI phần lớn được phát triển để ức chế HIV-1. Khác với NRTI, các thuốc NNRTI được gọi là các chất ức chế dị lập thể vì không cạnh tranh trực tiếp với nucleotide tự nhiên trong quá trình tổng hợp DNA của virus mà ức chế enzyme thông qua gắn kết vào một vị trí cách xa với trung tâm xúc tác polymerase của virus (Hình 7.35A), gọi là vị trí gắn NNRTI (NNRTI binding pocket – NNIBP). Sự gắn kết này làm thay đổi cấu dạng vị trí xúc tác của enzyme và do đó can thiệp vào quá trình tổng hợp DNA.

Vị trí gắn kết này (NNIBP) nằm ở vùng lòng bàn tay của tiểu đơn vị p66, giữa sợi β6-β10-β9 và sợi β12-β13-β14, cách khoảng 10Å so với vị trí xúc tác của enzyme. Nhìn chung, NNIBP có tính kị nước, bao gồm các amino acid mang vòng thơm (Y181, Y188, F227, W229 và Y318), các amino acid kị nước (L100, V106, V179, L234) và một số amino acid không kị nước (K103, K101 và P236). Một phần nhỏ NNIBP liên quan đến các amino acid của tiểu đơn vị p51 (I135 và E138) [61]. Tuy nhiên, NNIBP không hiện diện trong cấu trúc kết tinh của enzyme không gắn kết với chất ức chế, không gian này bình thường là vị trí các mạch bên của Y181, Y188 và W229. Sự gắn kết với NNRTI làm thay đổi định hướng của các amino acid này, tạo ra không gian cho chất ức chế và làm thay đổi cấu dạng của enzyme: sợi β12-β13-β14 (liên kết với đoạn mồi DNA) dịch chuyển xa khỏi sợi β6-β10-β9 (chứa bộ ba xúc tác D110, D185 và D186) (Hình 7.35B). Như vậy, liên kết giữa enzyme và NNRTI có thể làm giảm tương tác giữa đoạn mồi và dNTP, đồng thời còn có thể ngăn cản dNTP tương tác với Mg^{2+}, ảnh hưởng đến quá trình tổng hợp DNA của virus [62]. Ngoài ra, sự gắn kết của NNRTI có thể làm thay đổi hoặc ngăn chặn một số chuyển động của enzyme cần thiết cho hoạt tính xúc tác. Một điểm đáng lưu ý trong đặc điểm của NNIBP là vị trí này có tính "đàn hồi" với cấu dạng phụ thuộc vào kích thước, cấu trúc hóa học cũng như phương thức gắn kết của chất ức chế.



Hình 7.35. A. Cấu trúc của phức hợp enzyme phiên mã ngược HIV-1 với RNA/DNA và nevirapine [63] B. Thay đổi cấu dạng enzyme khi gắn kết với nevirapine [62]

Vị trí liên kết dị lập thể không quan trọng đối với chức năng của enzyme và không liên quan trực tiếp đến khả năng liên kết với dNTP hoặc tổng hợp DNA của virus. Do đó, đột biến điểm có thể xảy ra bên trong hay gần vị trí này, cản trở NNRTI gắn với NNIBP nhưng không can thiệp vào vai trò của enzyme trong quá trình tổng hợp DNA. Các đột biến kháng NNRTI quan trọng bao gồm: K103N/S, V106A/M, Y181C/I/V, Y188L/C/H và G190A/S/E. Các đột biến phụ thường xảy ra kết hợp với một trong các đột biến chính trên và bao gồm: L100I, K101P, P225H, F227L, M230L và K238T. Ngoài ra, đột biến kép cũng thường xuyên xảy ra, bao gồm: K103N/Y181C và K103N/L100I (Hình 7.36) [64]. Đề kháng với NNRTI thường thuộc ba cơ chế chính: mất hoặc thay đổi các tương tác, cản trở trong không gian và các hiệu ứng gián tiếp [51].

- Mất hoặc thay đổi tương tác

Đột biến của Y181 và Y188 thành các amino acid không mang vòng thơm (thường là Y181C và Y188L) gây đề kháng với nhiều NNRTI do làm giảm các tương tác kị nước quan trọng với sự gắn kết của thuốc. Các đột biến này thường ảnh hưởng nhiều đến các thuốc thế hệ đầu. Một số đột biến khác gây mất hoặc thay đổi tương tác với thuốc bao gồm V106A, F227L và Y318F.

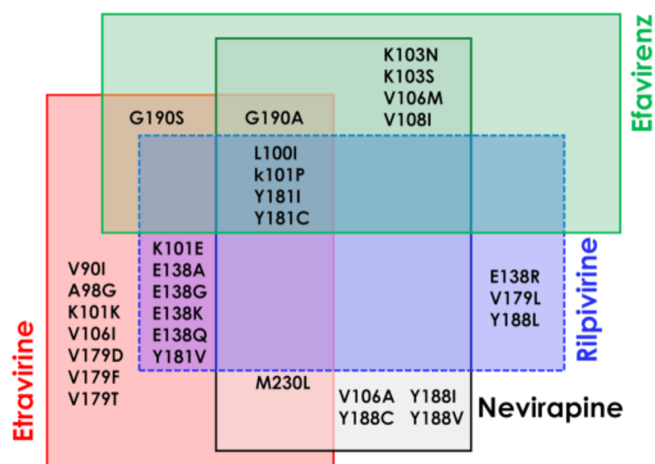
- Cản trở trong không gian

Đột biến G190A/S gây đề kháng với NNRTI (như nevirapine và efavirenz) do cản trở về không gian với mạch bên của alanine và serine. Tương tự, sự thay thế L100 bởi isoleucine (L100I) cũng gây trở ngại về không gian trong việc gắn kết với thuốc. Tuy nhiên, các đột biến này ít ảnh hưởng đến các thuốc thuộc cấu trúc DAPY (do khác biệt về phương thức gắn kết cũng như sự linh hoạt trong cấu trúc của thuốc).

- Hiệu ứng gián tiếp

Cấu trúc enzyme của thể đột biến K103N cho thấy một liên kết hydro giữa nhóm phenoxyl của Y188 và mạch bên của N103. Tương tác này giúp ổn định cấu trúc của enzyme và có thể cản trở NNRTI xâm nhập vào vị trí gắn kết NNIBP. Tuy nhiên, các thuốc có cấu trúc DAPY vẫn có thể ức chế hiệu quả thể đột biến này do có tương tác với N103, do đó bù đắp lại ảnh hưởng từ thay đổi cấu dạng của thể đột biến [65].

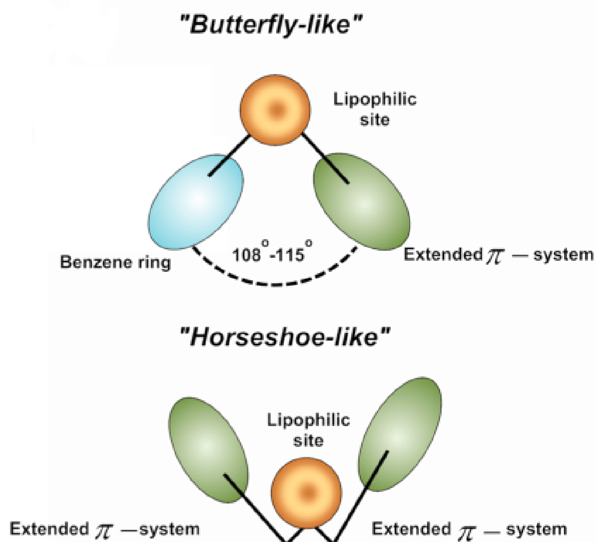
Đột biến ở các amino acid nằm tương đối xa với NNRTI trong NNIBP (V108I và V106A) có ảnh hưởng gián tiếp đến liên kết với thuốc bằng cách thay đổi vị trí của các amino acid tương tác trực tiếp với thuốc. Ví dụ, đột biến V108I có thể gây ra đề kháng với NNRTI do ảnh hưởng đến tương tác giữa Y181 và Y188 với chất ức chế.



Hình 7.36. Biểu đồ Venn cho thấy các đột biến kháng NNRTI quan trọng trên lâm sàng [64]

4.3.3. Quan hệ cấu trúc - tác dụng [61,64]

Mặc dù các thuốc NNRTI thuộc các nhóm cấu trúc khác nhau nhưng thường có một cấu dạng nhất định khi gắn với NNIBP, được gọi là cấu dạng "bướm" (butterfly) hoặc "móng ngựa" (horse-shoe) với một khung cấu trúc trung tâm và hai "cánh" (Hình 7.37).

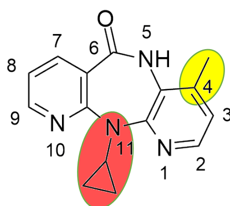


Hình 7.37. Mô hình pharmacophore của các thuốc NNRTI [64]

Nevirapine (dẫn chất dipyridodiazepinone)

Liên quan cấu trúc - tác dụng của các dẫn chất dipyridodiazepinone được tóm tắt trong Hình 7.38. Ngoài ra, một số nhóm thế ở vị trí C2 và C8 có thể tăng hoạt tính của thuốc. Nhìn chung, thuốc thuộc nhóm này có cấu trúc ít linh hoạt và do đó dễ phát triển

đề kháng khi xảy ra đột biến tại NNIBP do không thể thay đổi cấu dạng để thích ứng với những thay đổi về cấu trúc của thể đột biến.



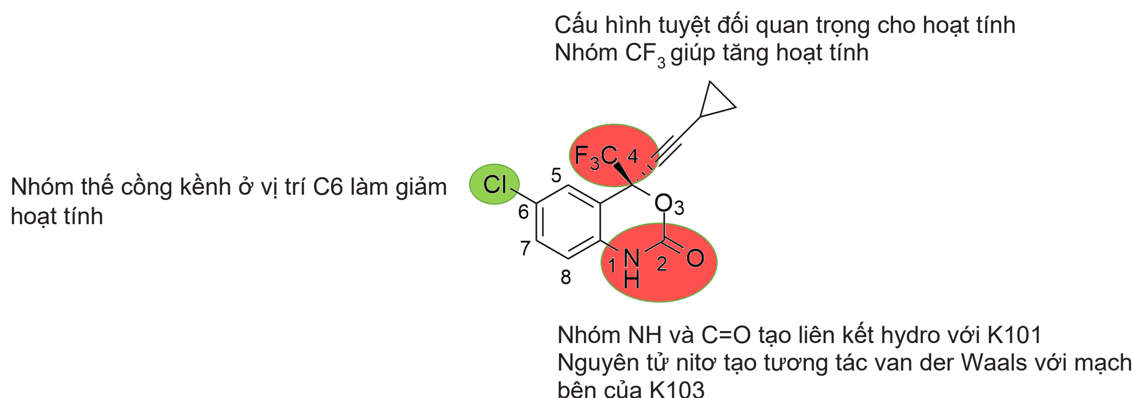
Hình 7.38. Quan hệ cấu trúc - tác dụng của dẫn chất dipyridodiazepinone

Efavirenz (dẫn chất benzoxazinone)

Liên quan cấu trúc - tác dụng của các dẫn chất benzoxazinone được tóm tắt trong Hình 7.39.

- Vòng phenyl và nhóm cyclopropyl-propynyl tạo liên kết kị nước với các amino acid của enzyme. Khác với nevirapine, nhóm thế cyclopropyl-propynyl có kích thước nhỏ hơn so với vòng pyridine do đó ít bị ảnh hưởng bởi các đột biến trên Y188 và Y181.

- Nhóm CF_3 (với hiệu ứng rút điện tử) giúp tăng hoạt tính ức chế do làm giảm pK_a của vòng carbamate từ đó tạo điều kiện cho liên kết hydro.



Hình 7.39. Liên quan cấu trúc - tác dụng của dẫn chất benzoxazinone

Etravirine và rilpivirine (dẫn chất DAPY)

Các dẫn chất DAPY với cấu trúc linh hoạt hơn có xu hướng gắn với enzyme dưới cấu dạng "móng ngựa" để thích ứng với những thay đổi về cấu trúc của vị trí gắn kết. Cấu dạng của thuốc có thể tự điều chỉnh với các chuyển động quay và tịnh tiến, giúp duy trì

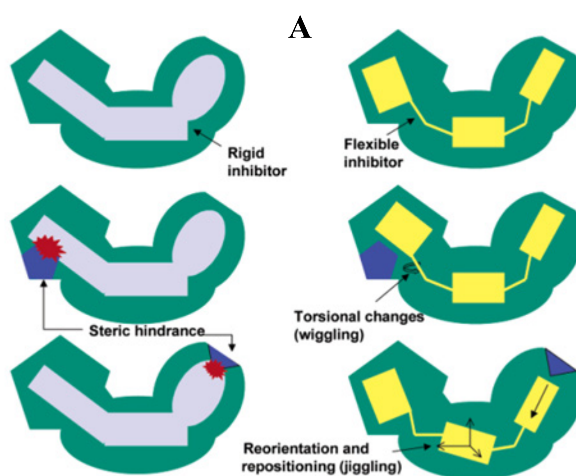
hoạt tính ức chế virus và giảm đề kháng với các thể đột biến (Hình 7.40A). Các dẫn chất DAPY mang các đặc điểm sau, tương ứng với pharmacophore của vị trí gắn kết và liên quan đến hoạt tính của thuốc (Hình 7.40B) [66]:

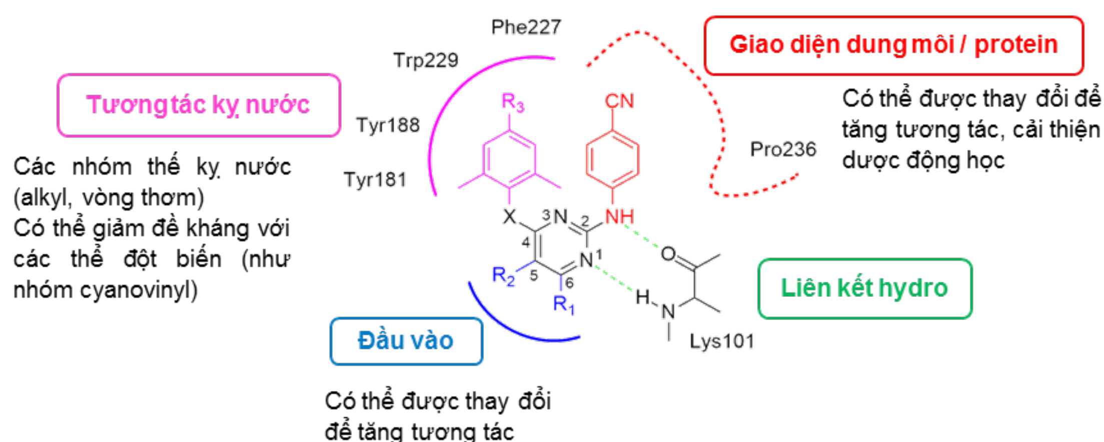
- Trung tâm kị nước: "cánh" trái thường chứa các vòng thơm tạo tương tác π-stacking với các amino acid Y181, Y188, F227, W229 và Y318.

- Nhóm nhận và cho liên kết hydro: nhóm NH giữa vòng pyrimidine trung tâm và "cánh" phải cùng với nguyên tử nitrogen N1 tạo liên kết hydro với amino acid của enzyme (K101).

- Giao diện dung môi/protein: kích thước và thể tích của NNIBP chịu ảnh hưởng đáng kể từ sự chuyển động của P236 cũng như sự dịch chuyển vị trí của sợi β10 và β11. Khi liên kết với các NNRTI có kích thước lớn, P236 tạo một vùng gắn kết mở rộng hơn. Do đó, sự linh hoạt của vị trí này cho phép những thay đổi về cấu trúc của chất ức chế để tăng tương tác với enzyme cũng như cải thiện các đặc tính dược động học. Ngoài ra, nhóm *para*-cyano của vòng aniline trên "cánh" phải có thể tạo tương tác lưỡng cực - lưỡng cực với mạch chính của H235.

- Đầu vào (entrance channel): không gian tạo bởi các amino acid Y181, Y188, F227, W229 và F227 cũng như Y318, P225, P236 và vùng mở nằm trước K103, E138 và V179 được coi là đầu vào cho vị trí gắn kết với NNRTI. Khu vực này cũng có thể được khai thác để tăng tương tác với các chất ức chế (ví dụ như liên kết hydro giữa nhóm amino trên C6 của etravirine với mạch bên của E138).





B

Hình 7.40. A. Sơ đồ minh họa khả năng thích ứng của chất ức chế với cấu trúc linh hoạt khi có những thay đổi trong vị trí gắn kết [67]
B. Đặc điểm pharmacophore và liên quan cấu trúc - hoạt tính của dẫn chất DAPY

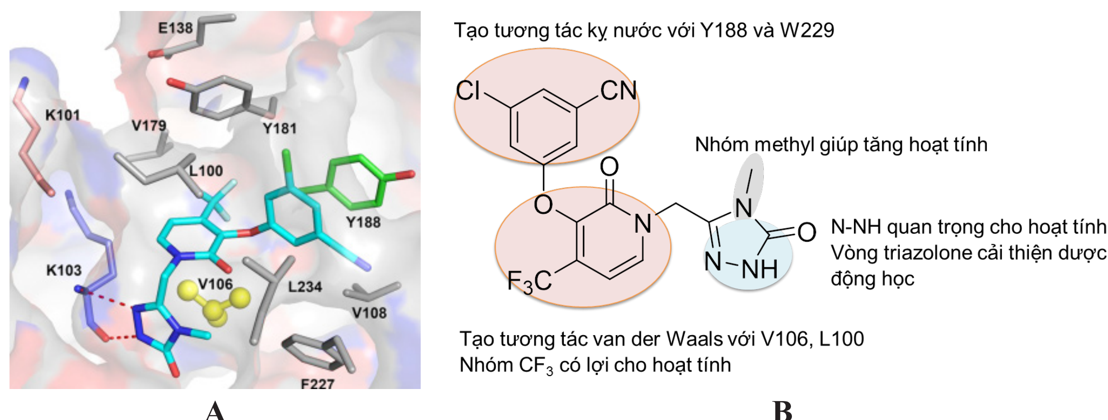
Doravirine (dẫn chất diaryl ether)

Doravirine với cấu trúc diaryl ether có hoạt tính cao hơn so với etravirine và rilpivarine trên hai thể đột biến phổ biến nhất K103N và Y181C, đóng góp vào nỗ lực phát triển các thuốc NNRTI mới chống lại sự đề kháng. Một số đặc điểm cấu trúc của thuốc liên quan đến tác dụng bao gồm (Hình 7.41) [68]:

- Vòng phenyl tạo tương tác kị nước với các amino acid Y188 và W229. Khác với dẫn chất DAPY, tương tác π-stacking với Y181 không đóng vai trò thiết yếu trong việc gắn kết thuốc, giải thích phần nào hoạt tính của thuốc trên thể đột biến Y181C.

- Vòng pyridone trung tâm có thể tạo tương tác van der Waals với mạch bên của V106 và L100. Đột biến trên V106 có thể dẫn đến đề kháng thuốc.

- Nhóm N-NH của vòng triazolone tạo liên kết hydro với mạch chính của K103, do đó vẫn duy trì hoạt tính với thể đột biến K103N. Ngoài ra, vòng triazolone góp phần cải thiện đặc tính dược động học của thuốc và nhóm thế methyl giúp tăng hoạt tính, trong khi nhóm thế lớn hơn (như ethyl) có thể gây cản trở không gian.



Hình 7.41. A. Cấu trúc đồng kết tinh của doravirine với enzyme [69]
B. Quan hệ cấu trúc - tác dụng của doravirine

4.3.4. Ứng dụng trong trị liệu - Dạng bào chế

Các thuốc NNRTI được chỉ định trong điều trị nhiễm HIV-1 phối hợp với các thuốc kháng retrovirus khác nhằm hạn chế đề kháng. Dùng đường uống.

4.3.5. Tác dụng phụ - Độc tính

Các thuốc NNRTI nhìn chung an toàn và dung nạp tốt, mặc dù độc tính trên gan và phát ban nghiêm trọng có liên quan đến việc sử dụng nevirapine, trong khi efavirenz gây tác dụng phụ trên hệ thần kinh trung ương [60].

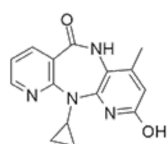
4.3.6. Dược động học - Tương tác thuốc

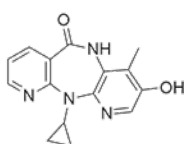
Nhìn chung các thuốc NNRTI có thời gian bán thải dài và do đó có thể dùng liều duy nhất trong ngày (Bảng 7.10). Đa số NNRTI được xếp vào nhóm 2 (độ tan thấp, tính thấm qua thành ruột cao) theo hệ thống phân loại sinh dược học (Biopharmaceutical Classification System – BCS), ngoại trừ etravirine (nhóm 4 – độ tan thấp, tính thấm thấp). Etravirine nên được dùng chung với thức ăn để tăng hấp thu. Ngoài ra, độ tan và hấp thu của rilpivirine phụ thuộc vào pH (tăng trong môi trường acid), do đó dùng chung với các thuốc làm tăng pH dạ dày có thể ảnh hưởng đến nồng độ thuốc trong huyết tương. Rilpivarine cũng nên được dùng chung với thức ăn để tăng hấp thu.

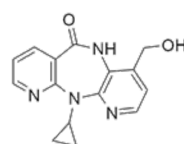
Thuốc trong nhóm được chuyển hóa chủ yếu bởi CYP450 ở gan và trải qua quá trình glucuronide hóa bởi enzyme UGT (Hình 7.42). Do đó, các thuốc ức chế hay cảm ứng CYP450 có thể ảnh hưởng đến nồng độ NNRTI và gây tương tác thuốc.

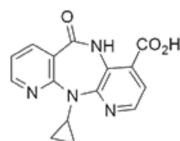
Bảng 7.10. Một số đặc tính dược động học của NNRTI [60,64]

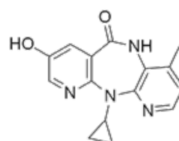
Thuốc	Sinh khả dụng	$T_{1/2}$ trong huyết tương (giờ)	CYP450 chuyển hóa
Nevirapine	> 90%	25 - 30	CYP3A4 và 2B6
Efavirenz	40 - 45%	40 - 55	CYP2B6 và 2A6
Etravirine	(chưa có dữ liệu)	41	CYP2B6, 2A6, 3A4, 2C19
Rilpiravine	Khoảng 50%	50	CYP3A4 và 3A5
Doravirine	(chưa có dữ liệu)	11 - 15	CYP3A

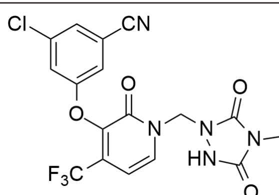


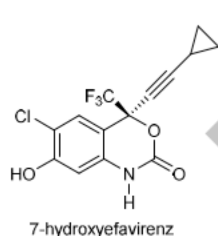


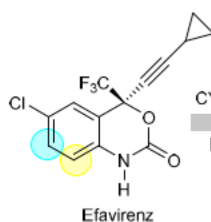


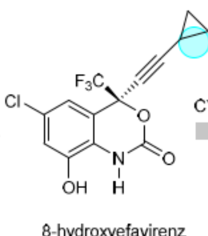


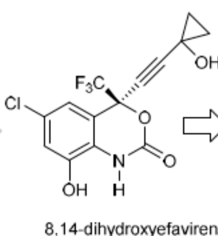


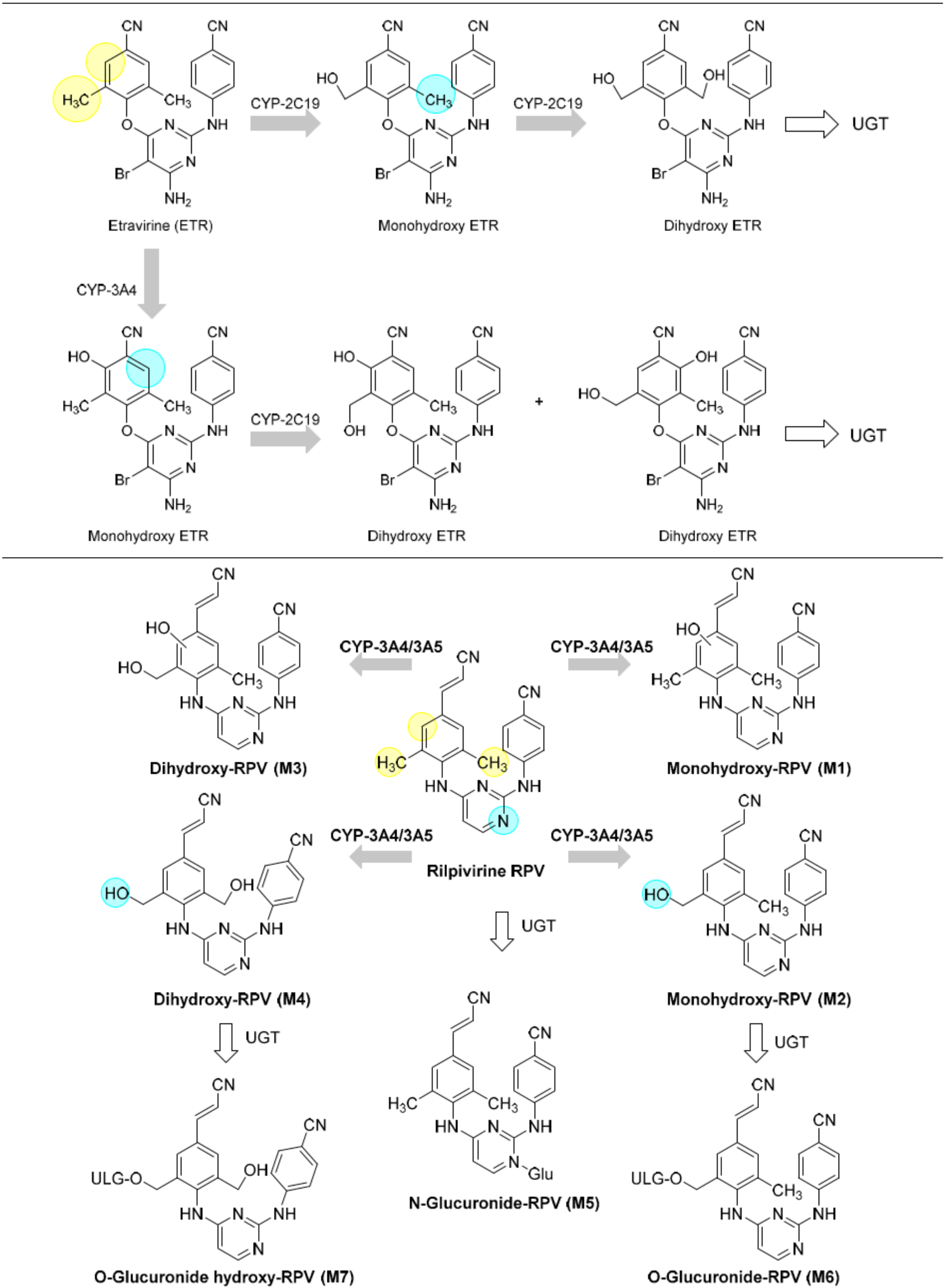










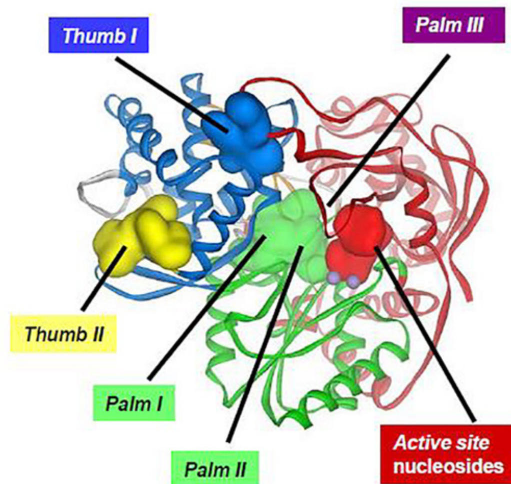


Hình 7.42. Các chất chuyển hóa chính của các thuốc NNRTI

4.4. Thuốc ức chế RNA polymerase

4.4.1. Thuốc ức chế polymerase NS5B virus HCV (HCV NS5B inhibitors)

NS5B, RNA polymerase phụ thuộc RNA [RNA-dependent RNA polymerase (RdRp)] là một trong bảy protein 'nonstructural' của bộ gen HCV. NS5B cần thiết cho sự sao chép HCV và sự tương đồng trình tự chặt chẽ của enzyme này trên tất cả 6 genotype của virus với vị trí xúc tác (active site) được bảo tồn cao khiến cho NS5B trở thành mục tiêu lý tưởng cho việc phát triển thuốc tác động trực tiếp điều trị HCV. Do không tồn tại như nhau ở mọi động vật có vú, enzyme này có thể là đích tác động tiềm năng với ít nguy cơ có tác dụng phụ không mong muốn. Có thể hình dung cấu trúc NS5B-HCV như hình dạng bàn tay phải với các ngón tay, lòng bàn tay và ngón cái. Vị trí xúc tác được bao bọc (duy nhất cho NS5B) nằm trong cấu trúc lòng bàn tay của protein, nơi có thể kiểm soát việc gắn nucleotide và khởi đầu cho tổng hợp RNA *de-novo* [83].

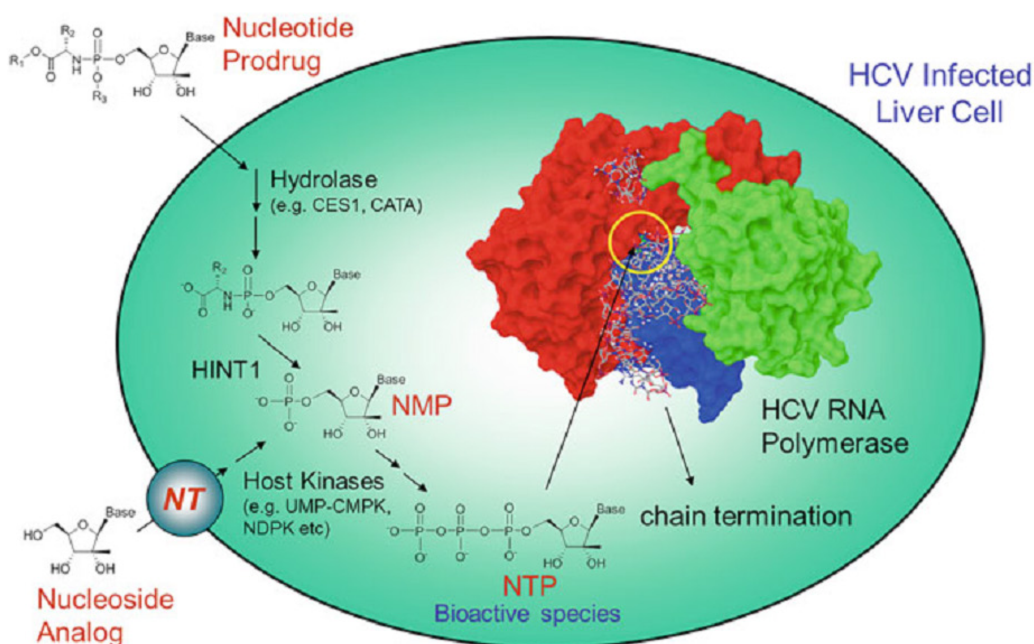


Hình 7.43. Túi gắn kết NS5B-HCV [83]

Thuốc trị HCV tác động trên NS5B RdRp bao gồm các phân tử nhỏ điều biến vị trí dị lập thể (allosteric) và các chất tương đồng nucleoside hướng vào vị trí xúc tác. Nhìn chung, các chất điều biến allosteric có tác dụng mạnh, nhưng dễ bị đề kháng và mức độ bao phủ các genotype virus hạn chế. Các chất tương đồng nucleoside khó dẫn đến đề kháng hơn, có hoạt tính trên một loạt các genotype HCV và cũng có tính an toàn thích hợp. Tuy nhiên, thuốc có cấu trúc tương đồng nucleoside cần được phosphoryl hóa thành dạng triphosphate để được polymerase NS5B "nhận diện" là cơ chất, và một khi được gắn vào chuỗi RNA dẫn đến kết thúc chuỗi, chấm dứt quá trình sao chép của virus. Điều này góp phần vào những thách thức trong việc khám phá các tác nhân kháng HCV tương đồng nucleoside.

4.4.1.1. Thuốc ức chế NS5B tương đồng nucleoside

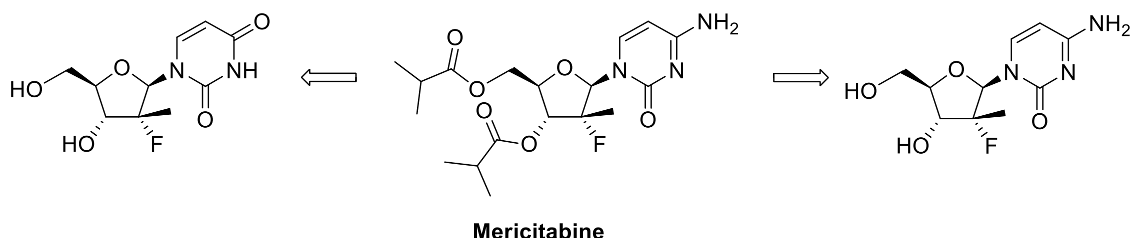
Chất ức chế NS5B tương đồng nucleoside và nucleotide (NI) được chèn vào chuỗi RNA tổng hợp bởi RdRp và ngăn chặn sự kéo dài chuỗi bởi các nucleotide tiếp theo. Các NI này chứa nhóm 3′-hydroxyl và do đó được xếp vào các chất kết thúc chuỗi không bắt buộc (non-obligate). Sự kết thúc chuỗi bởi các tác nhân này được cho là do cản trở không gian tạo ra bởi các nhóm 2′-methyl hoặc 2′-fluoro. Các chất tương đồng nucleoside cần được phosphoryl hóa thành dạng triphosphate trong tế bào để có hoạt tính. Tuy nhiên, các chất tương đồng nucleotide không cần bước phosphoryl hóa đầu tiên này (bước giới hạn tốc độ kích hoạt), nên các chất tương đồng nucleotide có nồng độ dạng triphosphate cao hơn trong tế bào. Để giảm sự phơi nhiễm toàn thân của các thuốc NI, dạng tiền dược được phát triển để có thể được chuyển hóa có chọn lọc bởi enzyme của gan [84].



Hình 7.44. Cơ chế tác động của các chất tương đồng nucleoside (hay nucleotide) ức chế NS5B HCV. Chất tương đồng nucleoside hay tiền dược nucleotide đi vào tế bào gan nhiễm HCV, được chuyển hóa thành nucleoside triphosphate có hoạt tính sinh học, ức chế RNA polymerase HCV [85]

Mericitabine

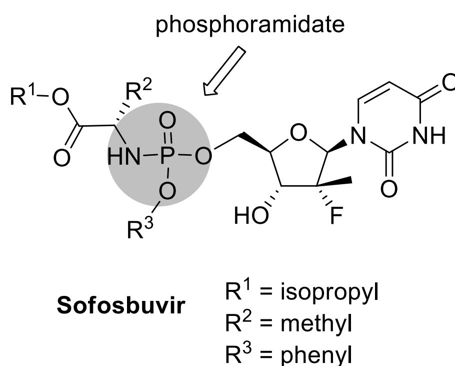
Mericitabine là chất tương đồng nucleoside ở dạng tiền dược ester diisobutyrate. Tuy không đủ hiệu quả khi dùng một mình, mericitabine được chứng minh làm tăng hiệu quả của các loại thuốc kháng virus khác khi được sử dụng đồng thời. Về mặt cấu trúc, dạng tiền dược cải thiện sinh khả dụng đường uống của mericitabine, nhưng không hạn chế được sự chuyển hóa thành dạng uridine không có hoạt tính (Hình 7.45) [86].



Hình 7.45. Mericitabine, dạng có hoạt tính (phải)
và chất chuyển hóa uridine không hoạt tính (trái)

Sofosbuvir

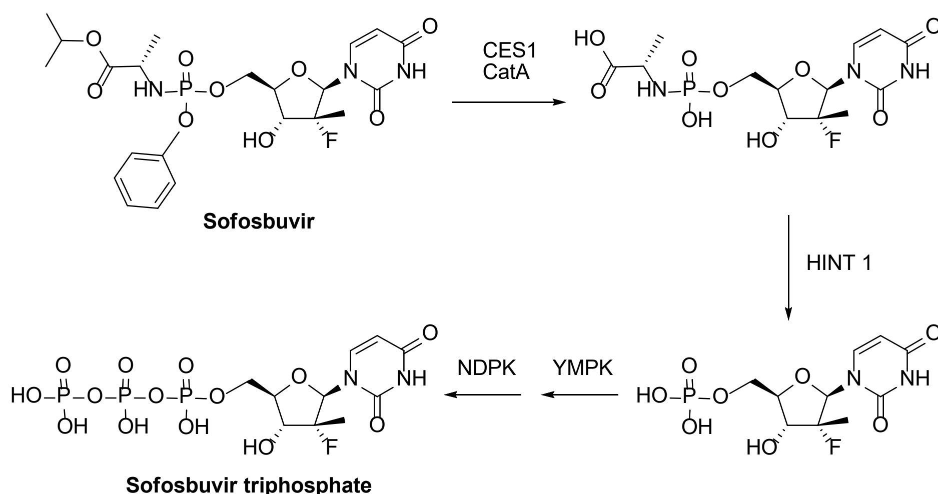
Nucleoside mono-, di- hoặc triphosphate không thể được sử dụng làm thuốc vì có tính phân cực cao, không qua được màng sinh học cũng không ổn định dưới tác động hóa học và enzyme. Sofosbuvir là tiền dược có cấu trúc **phosphoramidate**. Các nghiên cứu SAR cho thấy trên phosphoramidate, các ester alkyl nhỏ (R^1: mạch thẳng, mạch nhánh hoặc mạch vòng) có lợi hơn. Cấu hình L của gốc amino acid được ưu tiên hơn và chỉ các nhóm alkyl nhỏ (R^2) ở vị trí α được dung nạp. Ngoài ra ester phosphoramidate aryl (R^3) như phenyl/phenyl thế có lợi hơn các ester alkyl, nhưng một số nhóm như naphtyl dẫn đến độc tính (Hình 7.46) [87].



Hình 7.46. Tiền dược sofosbuvir

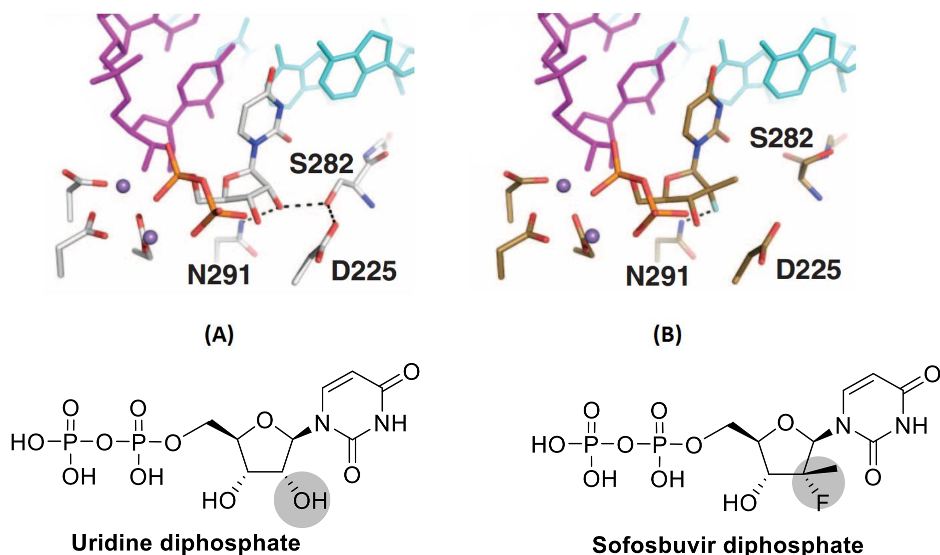
Sofosbuvir là một tiền dược giúp cải thiện sinh khả dụng đường uống, ổn định trong huyết thanh và tránh quá trình khử amine thành chất chuyển hóa uridine không có hoạt tính (như trong trường hợp mericitabine). Sau khi hấp thu vào máu và di chuyển đến gan, liên kết carboxyl ester và phosphoramidate aryl ester của sofosbuvir bị thủy phân bởi hai enzyme tại gan là carboxylesterase 1 (CES1) và cathepsin A (CatA). Sau đó nhóm phosphoramidate được chuyển hóa thành 5'-monophosphate tương ứng bởi HINT 1 (human histidine triad nucleotide-binding protein 1). Sự phosphoryl hóa dẫn chất 5'-monophosphate lần lượt thành di- và triphosphate được xúc tác bởi YMPK và NDPK (Hình 7.47). Sản phẩm 5'-triphosphate (được gọi là sofosbuvir triphosphate) có hoạt tính

ức chế mạnh NS5B. Trong cấu trúc sofosbuvir, việc thiết kế tiền dược được nghiên cứu thận trọng để sản phẩm phụ của quá trình chuyển hóa tại gan không gây độc tính [86,87].



Hình 7.47. Chuyển hóa sofosbuvir tại gan [87]

Tương tác giữa chất chuyển hóa có hoạt tính của sofosbuvir và RdRp của HCV (NS5B) ở mức độ phân tử được nghiên cứu thông qua tinh thể học tia X của phức hợp bậc ba bao gồm NS5B, sợi khuôn mẫu mồi RNA, và sofosbuvir diphosphate. Đối với uridine diphosphate tự nhiên, liên kết hydro được hình thành giữa 2'-OH và D225 (Hình 7.48A). Liên kết hydro này bị phá vỡ khi gắn kết với sofosbuvir diphosphate. Ngoài ra, sự hiện diện của nhóm thế 2′-methyl trong sofosbuvir dẫn đến phá vỡ liên kết hydro bổ sung với S282 (Hình 7.48B).



Hình 7.48. Gắn kết của uridine diphosphate (A) và sofosbuvir diphosphate (B) với vị trí xúc tác của NS5B [87]

Các nghiên cứu này cũng cho thấy mặc dù với sự gián đoạn mạng liên kết hydro mô tả trên, việc nhận biết 2'-F bởi N291 và cặp base Watson-Crick vẫn cho phép sofosbuvir đạt được cấu dạng cần thiết để được enzyme nhận diện như là cơ chất và kết hợp vào chuỗi RNA đang được tổng hợp, do đó dẫn đến kết thúc chuỗi không bắt buộc (non-obligate) và ức chế NS5B [87].

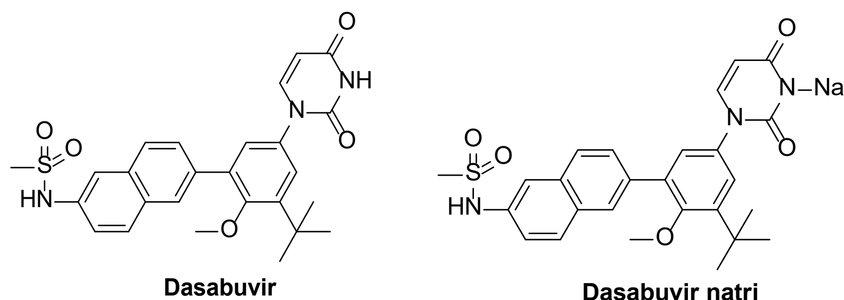
Sử dụng

Sofosbuvir là chất rắn kết tinh trắng đến trắng nhạt, ít tan trong nước. Dạng bào chế viên nén 400 mg. Năm 2013, sofosbuvir được FDA phê duyệt để điều trị bệnh nhân nhiễm HCV genotype 1, 2, 3 và 4. Năm 2014, sofosbuvir được cơ quan quản lý châu Âu phê duyệt để điều trị HCV. Năm 2015 sofosbuvir đã được Tổ chức Y tế Thế giới chỉ định là thuốc thiết yếu.

4.4.1.2. Thuốc ức chế NS5B không tương đồng nucleoside

Không giống như NI, chất ức chế không tương đồng nucleoside (NNI) là chất ức chế RdRp không tương tranh với cơ chất nucleotide. Thay vào đó, sự gắn kết của các chất này với RdRp ức chế sự thay đổi cấu dạng cần thiết cho hoạt tính polymerase. NNI liên kết với một trong năm vị trí dị lập thể (allosteric) trên RdRp, hai trong số đó nằm trong miền ngón tay cái (thumb subdomain) (vị trí T1 và T2) và hai trong miền lòng bàn tay (palm subdomain) (vị trí P1 và P2).

Dasabuvir: Dẫn chất aryl dihydrouracil



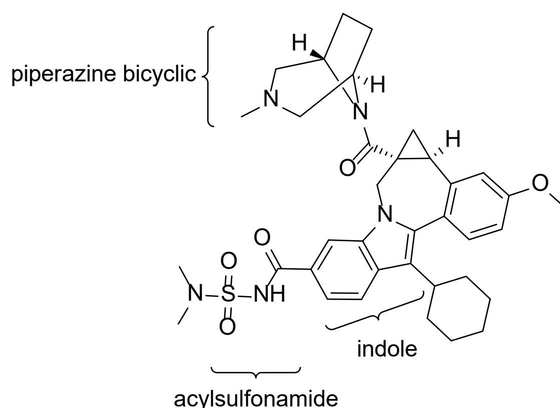
Hình 7.49. Dasabuvir và dasabuvir natri

Dasabuvir natri monohydrat là bột tinh thể từ trắng đến vàng nhạt đến hồng, không hút ẩm. Thực tế không tan trong HCl 0.1 N ở pH 1, ít tan trong nước và rất ít tan trong methanol.

Dasabuvir ức chế NS5B bằng cách gắn vào vị trí P1, là NNI đầu tiên được phê duyệt để điều trị nhiễm HCV genotype 1. Bằng cách liên kết với RdRp bên ngoài vị trí xúc tác của enzyme, dẫn đến sự thay đổi cấu dạng, do đó ngăn chặn sự kéo dài thêm của bộ gen virus đang được tổng hợp. Một hạn chế của sự gắn kết bên ngoài vị trí xúc tác là các vị trí gắn kết này được bảo tồn kém trên các genotype của virus, dẫn đến gia tăng khả năng phát triển đề kháng. Do đó, dasabuvir được giới hạn để điều trị genotype 1a và 1b, và phải được sử dụng kết hợp với các thuốc kháng virus khác [88].

Dasabuvir được dùng bằng đường uống, dạng kết hợp liều cố định với ombitasvir, paritaprevir và ritonavir, sử dụng để điều trị viêm gan mạn tính do HCV. Được FDA chấp thuận vào tháng 12 năm 2014, phối hợp nói trên được chỉ định để điều trị HCV genotype 1a với ribavirin hoặc genotype1b không có ribavirin.

Beclabuvir: Dẫn chất indolobenzazepine



Hình 7.50. Beclabuvir

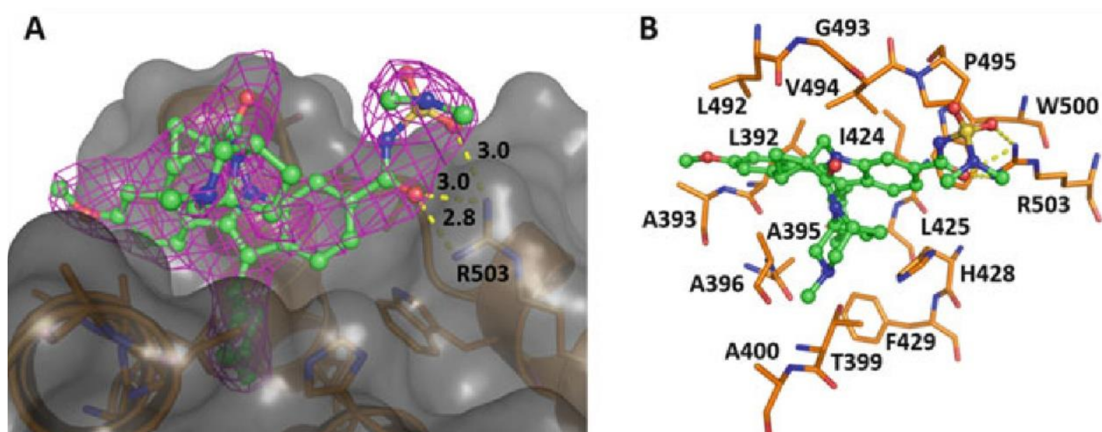
Beclabuvir ức chế NS5B bằng cách gắn vào vị trí T1. Nhóm acylsulfonamide làm cấu trúc beclabuvir có tính acid và được chuyển hóa đào thải qua quá trình glucuronide hóa. Các nghiên cứu về biến đổi sinh học *in vivo* cho thấy chất chuyển hóa chính của beclabuvir phát sinh từ quá trình mono-demethyl hóa của gốc sulfonamide. Chất chuyển hóa này vẫn còn hoạt tính kháng virus và không có độc tính [89].

- Quan hệ cấu trúc - tác động [89]:

Vòng ngưng tụ bảy cạnh và ba cạnh tạo cấu dạng gắn kết tối ưu.

Cấu trúc piperazine bicyclic cần cho đặc điểm dược động học tối ưu và để giảm thiểu tiềm năng tương tác thuốc - thuốc do sự chủ vận PXR.

Nghiên cứu sự gắn kết của beclabuvir trên NS5B cho thấy chất này chiếm phần lớn vị trí gắn kết kị nước, với các phần phân cực của phân tử tạo thành một ngăn thân nước. Các tương tác chính là tương tác giữa các phần cyclohexyl, phenyl và indole của phân tử với các chuỗi bên của amino acid kị nước, kết hợp với liên kết hydro giữa gốc sulfamide và R503. Các tiếp xúc bổ sung giữa gốc methylene của vòng cyclopropyl và nhóm *N*-methylpiperazine với L492, T399 và A400 kế cận cũng góp phần vào ái lực liên kết. Đáng chú ý, P495 được cho là tạo ra nhiều điểm tiếp xúc với nhân indole, giải thích hoạt tính giảm của beclabuvir trong các thử nghiệm sử dụng protein NS5B đột biến P495A và P495L. Phương thức gắn kết của beclabuvir có thể gợi ý cho cơ chế tác động của thuốc, trong đó tương tác với túi thân dầu trong vùng T1 của NS5B có thể ngăn cản sự thay đổi cấu dạng cần thiết cho hoạt động phiên mã của enzyme.



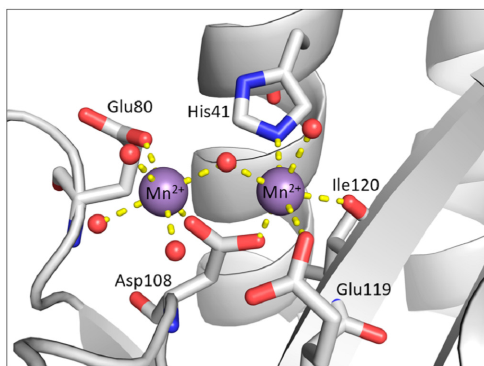
Hình 7.51. A. Beclabuvir gắn kết tại vị trí T1 của NS5B. B. Các amino acid (hình que, nguyên tử carbon màu cam) kề cận với beclabuvir (biểu diễn bởi hình cầu và que, nguyên tử carbon màu xanh lá cây). Dữ liệu thu được từ cấu trúc tinh thể đồng kết tinh của phức hợp bậc ba: beclabuvir (vị trí T1), chất ức chế vị trí 'palm' (không được hiển thị) và NS5B. Liên kết hydro được biểu diễn bằng các đường đứt nét màu vàng [89]

- Sử dụng: dạng beclabuvir hydrochloride, hiệu quả trên HCV genotype 1 và được phê duyệt tại Nhật Bản vào cuối năm 2016; kết hợp trong một viên nén duy nhất với asunaprevir (chất ức chế protease NS3) và daclatasvir (chất ức chế NS5A).

4.4.2. Thuốc ức chế endonuclease virus cúm (Influenza endonuclease inhibitors)

Metalloenzyme bao gồm hơn một phần ba tổng số các enzyme được biết và có liên quan đến nhiều loại bệnh ở người. Các hợp chất có thể tương tác mạnh với kim loại tại vị trí xúc tác có thể ức chế hiệu quả hoạt động của các metalloenzyme bằng cách ngăn cản sự tiếp cận của cơ chất đến vị trí xúc tác cũng như ức chế hoạt tính xúc tác thông qua trung gian ion kim loại. Các chất ức chế gắn kết kim loại có thể thuận nghịch nhưng có khả năng hình thành tương tác mạnh do enthalpy lớn của liên kết kim loại - ligand hoặc liên kết cộng hóa trị phối trí.

Phức hợp RNA polymerase của virus cúm - một heterotrimer bao gồm tiểu đơn vị PB1, PA và PB2 - là đích tác động hấp dẫn cho các liệu pháp kháng virus mới. PB1 chứa vị trí xúc tác của RNA polymerase phụ thuộc RNA (RdRp). Vùng N-terminal endonuclease của PA (PAN) là một metalloenzyme có nhiệm vụ tách mRNA gắn kết để tạo ra các đoạn mồi cho quá trình phiên mã của virus trong một tiến trình được gọi là "cap-snatching". Vùng này được bảo tồn cao ở các chủng và các serotype influenza và đóng vai trò quan trọng trong vòng đời của virus. Các nghiên cứu tinh thể học và sinh hóa chỉ ra rằng vùng PAN chứa vị trí xúc tác gắn kết với hai cation Mg^{2+} hoặc 2 cation Mn^{2+}. Các cation kim loại nằm trong một túi bao gồm histidine (His41), isoleucine (Ile120), và bộ ba amino acid (Asp108, Glu80 và Glu119), tất cả đều liên kết phối trí với các ion kim loại ở vị trí xúc tác (Hình 7.52). Các ion kim loại này rất cần thiết cho việc xúc tác và các phân tử nhỏ liên kết phối trí với các ion kim loại có thể ức chế hiệu quả hoạt tính của endonuclease.

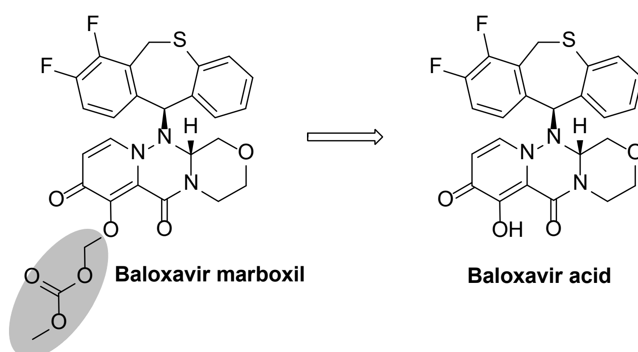


Hình 7.52. Cấu trúc của vị trí xúc tác của vùng PAN endonuclease (PDB ID 5DES). Vị trí xúc tác sử dụng hai cation kim loại hóa trị hai tạo điều kiện thuận lợi cho sự thủy phân phosphodiester của RNA. Các phân tử hydroxide và nước trong tương tác với kim loại được biểu diễn bằng hình cầu màu đỏ. Tất cả các liên kết phối trí được biểu diễn bằng đường đứt nét. Cấu trúc được tạo ra bởi PyMOL

Baloxavir marboxil (BXM)

- Cấu trúc và tính chất

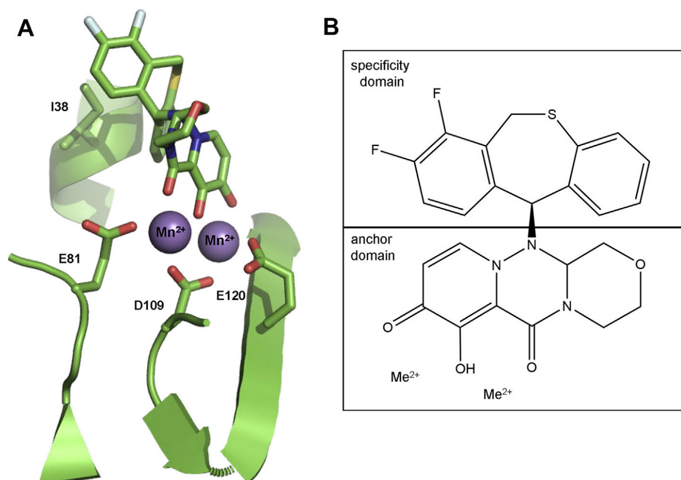
Baloxavir marboxil (logP = 2.26): dễ tan trong dimethylsulfoxide, tan trong acetonitrile, tan nhẹ trong methanol và ethanol và thực tế không tan trong nước. Baloxavir marboxil (BXM) là tiền chất, tác nhân có hoạt tính là baloxavir acid (BXA) được phóng thích nhanh chóng trong cơ thể bởi arylacetamide deacetylase trong tế bào máu, gan và lòng ruột non [95].



Hình 7.53. Baloxavir marboxil và baloxavir acid

- Cơ chế tác dụng [96]

Vùng endonuclease của PA chứa hai ion kim loại hóa trị hai trong vị trí xúc tác, và BXA được thiết kế để liên kết với các ion kim loại này. Chiến lược này cũng được sử dụng để phát triển các chất ức chế integrase và các chất ức chế ribonuclease H (RNase H) của HIV-1. Cấu trúc chung cho các chất gắn kết kim loại này là ba dị nguyên tử được định vị chiến lược tạo thành một "vùng neo" (anchor domain). Các cấu trúc tinh thể của tiểu đơn vị PA đồng kết tinh với BXA cho thấy chất ức chế gắn kết với hai ion kim loại thông qua ba nguyên tử oxygen. Đồng thời, một vùng kị nước góp phần vào liên kết này, thường được gọi là "vùng đặc hiệu" (specific domain), cho phép tính chọn lọc trên đích tác động (Hình 7.54).



Hình 7.54. A. Tương tác giữa BXA và vị trí xúc tác của PAN endonuclease (PDB: 6FS8). Các amino acid được biểu diễn dưới dạng que. Hai ion kim loại (hình cầu màu tím) tạo chelate với E81, D109, E120 và ba nguyên tử oxygen trong "vùng neo" của BXA. I38 tạo thành một phần giao diện kị nước tương tác với "vùng đặc hiệu" của BXA. B. Cấu trúc của BXA làm nổi bật các vùng neo và vùng đặc hiệu (Me^{2+} đại diện cho Mg^{2+} hoặc Mn^{2+}) [96]

- Sự đề kháng

Các đột biến tạo ra khả năng kháng BXM được quan sát trên lâm sàng. Virus đột biến I38T dẫn đến tăng giá tăng giá trị EC_{50} của thuốc đến 50 lần. Đột biến I38T làm giảm tương tác van der Waals giữa vùng kị nước của BXA với túi liên kết. Thật vậy, các dữ liệu sinh hóa cho thấy đột biến I38T làm giảm ái lực của BXA với enzyme.

- Sử dụng

Điều trị cúm, dự phòng sau phơi nhiễm virus cúm. Dạng bào chế: Viên nén 20 mg, 40 mg.

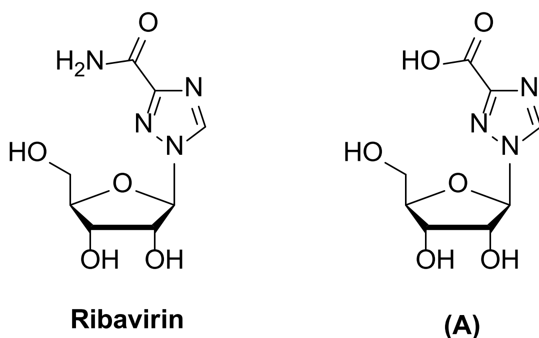
- Tương tác thuốc

Baloxavir có thể tạo phức chelate với các cation đa hóa trị như calcium, nhôm hoặc magnesium. Dùng chung với các sản phẩm chứa cation đa hóa trị có thể làm giảm nồng độ baloxavir trong huyết tương, dẫn đến giảm hiệu quả của thuốc. Tránh dùng chung baloxavir với các sản phẩm từ sữa, đồ uống tăng cường calcium, thuốc nhuận tràng chứa cation đa hóa trị, thuốc kháng acid hoặc chất bổ sung đường uống (ví dụ: calcium, sắt, magnesium, selenium hoặc kẽm).

4.4.3. Thuốc ức chế RNA polymerase khác

4.4.3.1. Ribavirin

- Cấu trúc: Ribavirin là chất tương đồng nucleoside guanosine, chứa gốc ribose được *N*-glycosyl hóa bởi 1,2,4-triazole-3-carboxamide. Ribavirin triphosphat (RTP) chứa nhóm phosphate liên kết với carbon C5 của gốc ribose.



Hình 7.55. Ribavirin và tạp A

- Kiểm nghiệm

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, dễ tan trong nước, ít tan trong ethanol và methylene chloride.

Định tính: Phổ IR so với chuẩn đối chiếu

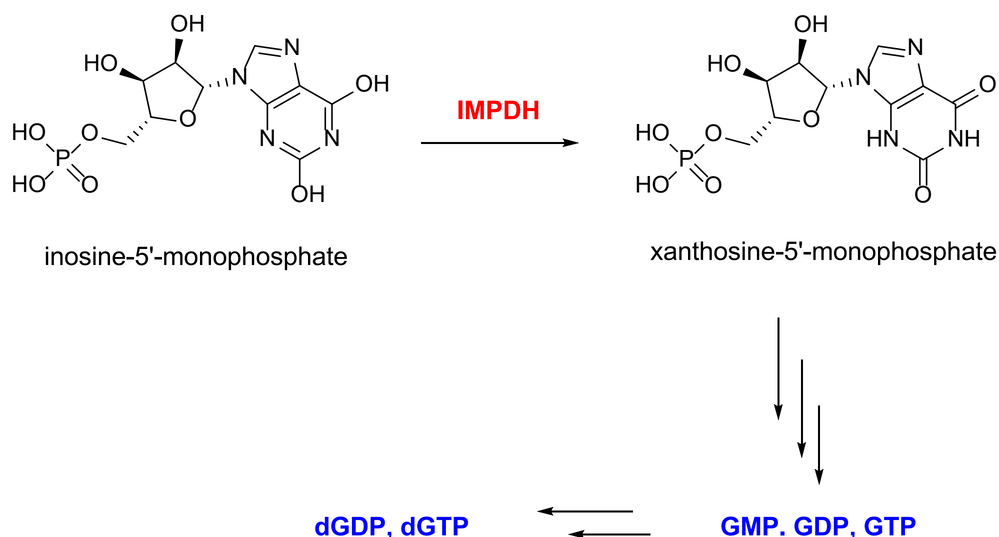
Kiểm tinh khiết: pH 4-6.5; năng suất quay cực -33° đến -37°; tạp A đặc hiệu được kiểm bằng phương pháp sắc ký lỏng.

Định lượng: Phương pháp sắc ký lỏng.

- Cơ chế tác dụng

Ribavirin có một số cơ chế tác động ức chế sinh tổng hợp RNA và protein của virus. Sau khi được hoạt hóa bởi adenosine kinase thành các chất chuyển hóa ribavirin mono-, di- và triphosphate. Ribavirin triphosphate (RTP) ức chế trực tiếp mRNA polymerase của virus bằng cách liên kết với vị trí gắn kết nucleotide của enzyme. Điều này ngăn cản sự kết hợp của các nucleotide tự nhiên, dẫn đến giảm sao chép của virus hoặc tạo ra các virion bị lỗi. RTP cũng thể hiện tác dụng ức chế đối với mRNA guanylyltransferase của virus và mRNA 2′-O-methyltransferase của virus sốt xuất huyết. Ribavirin hoạt động như một chất gây đột biến ở virus mục tiêu, gây ra "thảm họa lỗi" do sự đột biến của virus gia tăng. RTP kết hợp với cytidine triphosphate hoặc uridine triphosphate với hiệu suất như nhau và để ngăn chặn sự kéo dài HCV RNA [90].

Ức chế inosine monophosphate dehydrogenase của vật chủ (IMPDH) và sau đó làm cạn kiệt nguồn GTP được cho là một cơ chế tác động khác của ribavirin. IMPDH xúc tác bước giới hạn tốc độ trong đó inosine-5'-monophosphate được chuyển thành xanthosine-5'-monophosphate trong quá trình tổng hợp guanosine monophosphate (GMP). GMP sau đó được chuyển đổi thành guanosine triphosphate (GTP). Ribavirin monophosphate mô phỏng inosine-5'-monophosphate và hoạt động như một chất ức chế cạnh tranh IMPDH. Tổng hợp *de novo* của nucleotide guanine bị ức chế và giảm lượng GTP nội bào dẫn đến sự suy giảm tổng hợp protein của virus và hạn chế sự nhân lên của bộ gen virus [29].



Hình 7.56. Vai trò của IMPDH trong tổng hợp nucleotide nội bào

- Sự chuyển hóa

Ribavirin trải qua hai con đường chuyển hóa: hoặc đảo nghịch sự phosphoryl hóa hoặc phân hủy thông qua quá trình thủy phân deribosyl hóa và amide tạo ra chất chuyển hóa 1,2,4-triazole-3-carboxylic acid. Các nghiên cứu *in vitro* chỉ ra rằng ribavirin không phải là cơ chất của enzyme CYP450.

- Độc tính

Thiếu máu do ribavirin là một tác dụng không mong muốn phụ thuộc vào liều lượng, trong đó nồng độ hemoglobin giảm có thể nhận thấy trong vòng 1-2 tuần đầu điều trị. Cơ chế của bệnh thiếu máu do ribavirin được chứng minh là liên quan đến giảm số lượng hồng cầu lưới và hoạt động của bơm Na-K của hồng cầu, đồng thời tăng khả năng vận chuyển K-Cl, IgG liên kết màng... Không thể loại trừ tác dụng gây ung thư tiềm tàng của ribavirin trên người vì ribavirin thể hiện hoạt tính gây đột biến trong thử nghiệm lymphoma chuột *in vitro*.

- Sử dụng

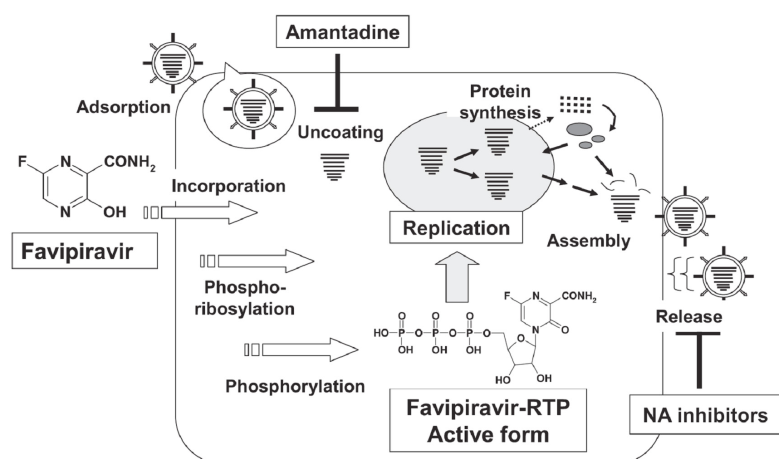
Ở bệnh nhân HCV genotypes 1/2/3/4/5/6, ribavirin có thể được sử dụng trong liệu pháp kết hợp bao gồm daclatasvir và sofosbuvir; sofosbuvir và ledipasvir, simeprevir và sofosbuvir; ombitasvir, paritaprevir, ritonavir và dasabuvir; ritonavir, ombitasvir và paritaprevir; elbasvir và grazoprevir.

4.4.3.2. Favipiravir

Favipiravir là hợp chất kháng virus có tác dụng ức chế chọn lọc và mạnh RdRp của virus cúm và nhiều loại virus RNA khác. Favipiravir ức chế tất cả các serotype và các chủng virus cúm A, B và C được thử nghiệm, bao gồm cả những chủng kháng các chất ức chế neuraminidase đã được phê duyệt. Hợp chất này cũng hoạt tính trên một số loại virus arena-, bunya- và flavivirus, cả *in vitro* lẫn trong các mô hình động vật gặm nhấm, và cho thấy hoạt tính *in vitro* mạnh chống lại các virus thuộc họ alphavirus, paramyxovirus và norovirus.

- Cơ chế tác dụng

Favipiravir là một tiền dược, được phosphoribosyl hóa trong tế bào thành dạng có hoạt tính, favipiravir ribofuranosyl-5′-triphosphate (favipiravir-RTP), có tác dụng ức chế sự nhân lên của virus cúm. Favipiravir-RTP có thể được kết hợp vào RNA của virus đang được tổng hợp, hoặc có thể gắn kết với các vùng polymerase được bảo tồn, ngăn cản sự kết hợp các nucleotide cho quá trình sao chép và phiên mã RNA của virus [91].



Hình 7.57. Cơ chế tác dụng của favipiravir [91]

- Sử dụng

Favipiravir có sinh khả dụng đường uống tốt (~ 94%), $T_{1/2}$ ngắn (2.5 - 5 giờ), thải trừ nhanh qua thận ở dạng hydroxyl hóa. Quá trình đào thải được thực hiện qua trung gian aldehyde oxidase và một phần bởi xanthine oxidase. Favipiravir không bị chuyển hóa bởi cytochrome P450 nhưng ức chế một trong những enzyme này (CYP2C8). Do vậy, chất này cần được sử dụng cẩn thận khi kết hợp với những thuốc được chuyển hóa bởi CYP2C8.

Favipiravir ngăn chặn sự sao chép của nhiều chủng virus cúm, bao gồm virus cúm gia cầm H7N9. Thuốc này được phê duyệt sử dụng để kiểm soát dịch cúm năm 2014. Trong đợt bùng phát virus Ebola vào năm 2014, favipiravir là một trong những loại thuốc được WHO đưa vào danh sách thử nghiệm. Favipiravir lần đầu tiên được sử dụng để chống lại SARS-CoV-2 ở Vũ Hán. Sau đó, khi đại dịch lây lan sang châu Âu, thuốc được phê duyệt để sử dụng khẩn cấp ở Ý và hiện đang được sử dụng ở Nhật Bản, Nga, Ukraine, Uzbekistan, Moldova và Kazakhstan. Favipiravir cũng được cho phép sử dụng ở Ả Rập Xê Út và Các Tiểu Vương quốc Ả Rập Thống nhất, sau đó ở Thổ Nhĩ Kỳ, Bangladesh và gần đây nhất là Ai Cập. Tháng 6 năm 2020, favipiravir được chấp thuận ở Ấn Độ sử dụng trong các trường hợp nhiễm COVID-19 ở mức độ nhẹ và trung bình [92]. Dạng bào chế: viên nén 200 mg; 400 mg.

- Tương tác thuốc

Pyrazinamide: Sử dụng đồng thời pyrazinamide với favipiravir làm tăng nồng độ uric acid. Bắt buộc theo dõi nồng độ uric acid thường xuyên khi các thuốc này được sử dụng cùng nhau.

Repaglinide: Favipiravir ức chế sự chuyển hóa của repaglinide bởi CYP2C8, do đó làm tăng khả năng gây độc (hạ đường huyết, nhức đầu, tăng tỷ lệ nhiễm trùng đường hô hấp trên, v.v.). Cần thận trọng khi sử dụng đồng thời.

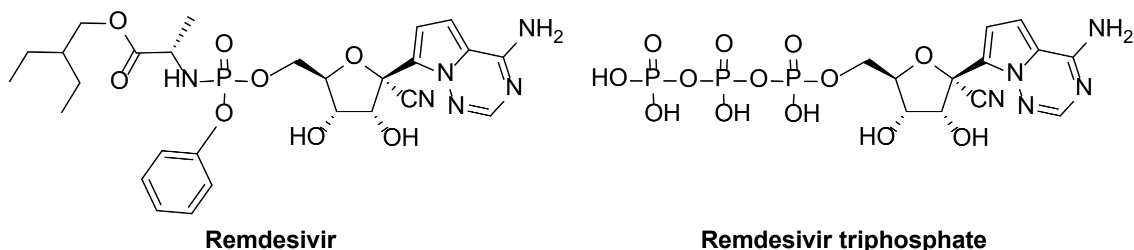
Theophylline: Theophylline làm tăng nồng độ favipiravir trong máu và có thể xảy ra các phản ứng phụ với favipiravir.

Famciclovir, sulindac: Hiệu quả của những thuốc này có thể giảm khi dùng chung với favipiravir.

Acyclovir: Có thể làm chậm quá trình chuyển đổi favipiravir thành dạng có hoạt tính, do đó làm giảm hiệu quả kháng virus.

4.4.3.3. Remdesivir

Coronavirus sử dụng một RdRp để sao chép và phiên mã bộ gen RNA của chúng nên RdRp là một mục tiêu quan trọng để phát triển các loại thuốc kháng lại loại virus này. Remdesivir là thuốc kháng SARS-CoV-2 đầu tiên được FDA chấp thuận cho điều trị bệnh nhân COVID-19, mặc dù hiệu quả của thuốc này cũng còn nhiều tranh cãi.



Hình 7.58. Remdesivir và remdesivir triphosphate (RTP)

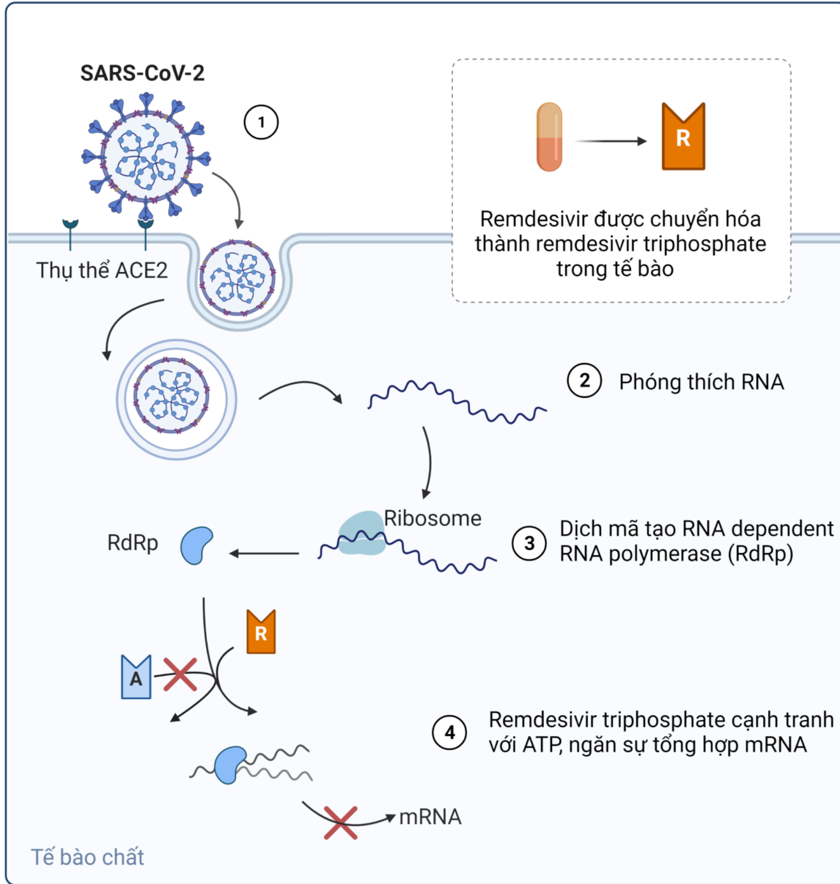
- Cấu trúc

Remdesivir là tiền dược mono-phosphoramidate (chỉ chứa một dạng đồng phân quang học) của chất tương đồng nucleoside adenosine.

- Cơ chế tác dụng

Remdesivir trải qua quá trình chuyển đổi trong nội bào tương tự như sofosbuvir và cuối cùng tạo thành dạng nucleoside triphosphate (RTP) có hoạt tính dược lý (Hình 7.58). RTP hoạt động như một chất tương đồng ATP và cạnh tranh với cơ chất ATP nội sinh để kết hợp vào RNA của SARS-CoV bởi RdRp, dẫn đến kết thúc chuỗi và ức chế sự nhân lên của virus (Hình 7.59) [93]. Các nghiên cứu sinh hóa cho thấy RdRp có thể sử dụng RTP làm chất nền, dẫn đến sự kết hợp của remdesivir monophosphate (RMP) vào sản phẩm RNA đang được tổng hợp. Sau khi kết hợp với RMP, RdRp kéo dài RNA thêm ba nucleotide trước khi enzyme này ngừng hoạt động. Cơ chế ức chế này đặc trưng cho

coronavirus vì RdRp của virus Ebola có thể thêm năm nucleotide vào RNA sau khi kết hợp RMP trước khi ngừng hoạt động [122].



Hình 7.59. Cơ chế tác dụng của remdesivir. (1) Sự xâm nhập của SARS-CoV-2 vào tế bào đích bằng cách gắn kết với thụ thể ACE-2 trên bề mặt tế bào; (2) Khi xâm nhập vào tế bào, SARS-CoV-2 phóng thích RNA của virus; (3) SARS-CoV-2 sử dụng tế bào chủ để dịch RNA tạo thành RdRp; (4) RdRp sau đó được sử dụng để tạo điều kiện cho sự sao chép virus. (5) Remdesivir triphosphate cạnh tranh với ATP nội sinh để kết hợp vào RNA bởi RdRp, dẫn đến kết thúc chuỗi [94] (hình được vẽ bởi Biorender.com)

- Hoạt tính kháng virus

Remdesivir là một chất kháng virus phổ rộng có khả năng chống lại virus RNA. Hợp chất này được chứng minh làm giảm sự sao chép *in vitro* trong đại thực bào người và tế bào nội mô vi mạch phổi bị nhiễm Pneumoviridae (ví dụ, virus hợp bào hô hấp) và Paramixoviridae (ví dụ, virus sởi, virus quai bị và virus parainfluenza). Thuốc cũng được chứng minh là có hoạt tính kháng virus đối với Filiviridae (ví dụ, virus Ebola và virus Marburg) trong nhiều loại tế bào khác nhau ở người. Đặc biệt, remdesivir chứng minh có

khả năng ức chế mạnh SARS-CoV-1 và MERS-CoV trong môi trường nuôi cấy tế bào biểu mô đường thở ở người [93].

- Sự đề kháng

Đề kháng remdesivir thường xảy ra cùng với việc giảm khả năng hoạt động của virus, thông qua hai đột biến trên RdRp (F476L và V553L) và có thể được khắc phục được khi tăng nồng độ thuốc (trong chỉ số trị liệu). Một báo cáo trường hợp gần đây chứng minh sự xuất hiện của một đột biến mới trong RdRp (D848Y) sau khi điều trị bằng remdesivir ở một bệnh nhân COVID-19 có liên quan đến thất bại điều trị.

- Dược động học

Remdesivir không thích hợp để dùng đường uống do chuyển hóa hoàn toàn bước đầu ở gan. Do đó, thuốc được sử dụng bằng đường tiêm. Kết quả nghiên cứu cho thấy việc dùng thuốc bằng cách tiêm bắp không đạt hiệu quả tối ưu do sự giải phóng remdesivir từ cơ chậm và không ổn định. Dược động học của việc tiêm dưới da chưa được đánh giá ở người. Ngược lại, remdesivir được dùng qua đường tĩnh mạch (IV) nhanh chóng được chuyển hóa thành chất tương đồng nucleoside (GS-441524) (Hình 7.59).

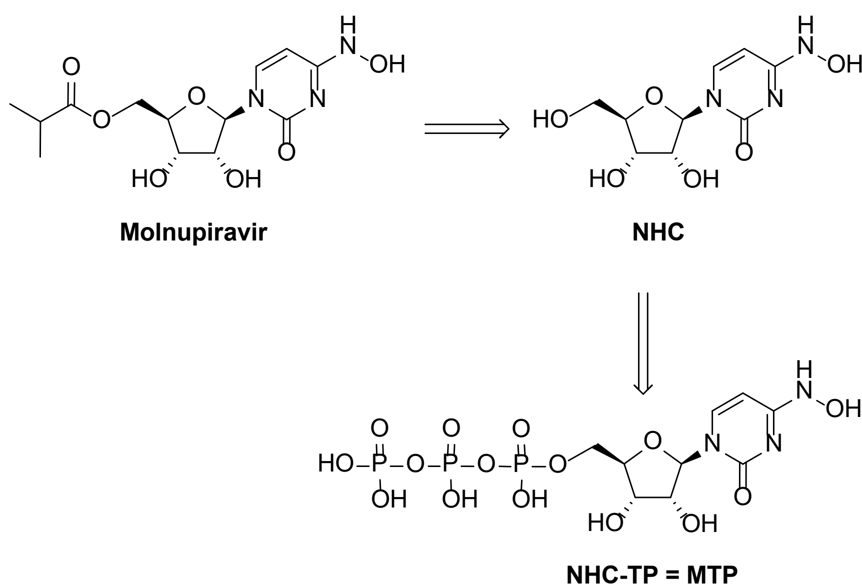
Remdesivir và các chất chuyển hóa được thải trừ chủ yếu qua thận (74%) và qua phân (18%). Sau khi dùng qua đường tĩnh mạch, chất chuyển hóa chủ yếu được phát hiện trong nước tiểu là chất chuyển hóa monophosphate (49%), tiếp theo là remdesivir (10%) và các chất chuyển hóa khác chiếm 6%. Do khả năng hòa tan trong nước kém, remdesivir được hòa tan bằng sulfobutylether-β -cyclodextrin (SBECD) cho chế phẩm tiêm tĩnh mạch, chất trợ tan này được bài tiết chủ yếu qua thận.

- Tương tác thuốc

Dữ liệu *in vitro* chứng minh tác dụng đối kháng của chloroquine đối với hoạt tính nội bào và hoạt tính kháng virus của remdesivir. Do đó, không nên dùng chung remdesivir và chloroquine hoặc hydroxychloroquine vì có thể làm giảm hoạt tính kháng virus của remdesivir.

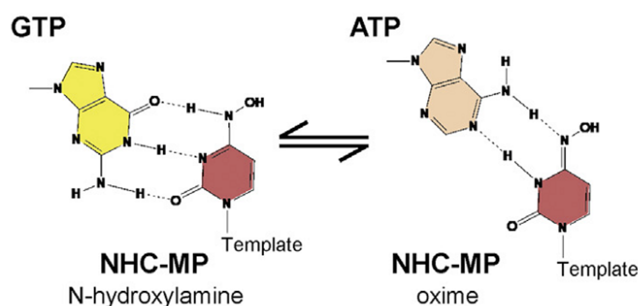
4.4.3.4. Molnupiravir

Molnupiravir là chất tương đồng nucleoside, được sử dụng để điều trị SARS-CoV-2 (chính thức được cấp phép tháng 11 năm 2021 tại Anh). Đây là một tiền dược isopropyl ester của β-D-N4-hydroxycytidine (NHC). Dùng bằng đường uống, molnupiravir sau khi hấp thu vào máu, sẽ bị esterase thủy phân để tạo NHC, sau đó NHC sẽ được chuyển hóa trong nội bào thành dạng triphosphate (NHC-TP = MTP), thể hiện tác động như một cơ chất của RNA polymerase.



Hình 7.60. Molnupiravir và chất chuyển hóa NHC và NHC-TP

Cơ chế tác động của molnupiravir chủ yếu do sự đột biến RNA thông qua khuôn mẫu sợi đơn. NHC có thể tồn tại ở hai dạng hỗ biến khác nhau, ảnh hưởng đến sự ghép cặp các base. Dạng N-hydroxylamine hoạt động giống như C và cho phép bắt cặp base với G, trong khi dạng oxime hoạt động giống như U và cho phép tạo cặp base với A (Hình 7.61). Vì vậy, khi xuất hiện dưới dạng NHC-MP trong khuôn mẫu, hai dạng hỗ biến này cho phép kết hợp với cả GTP và ATP [120].

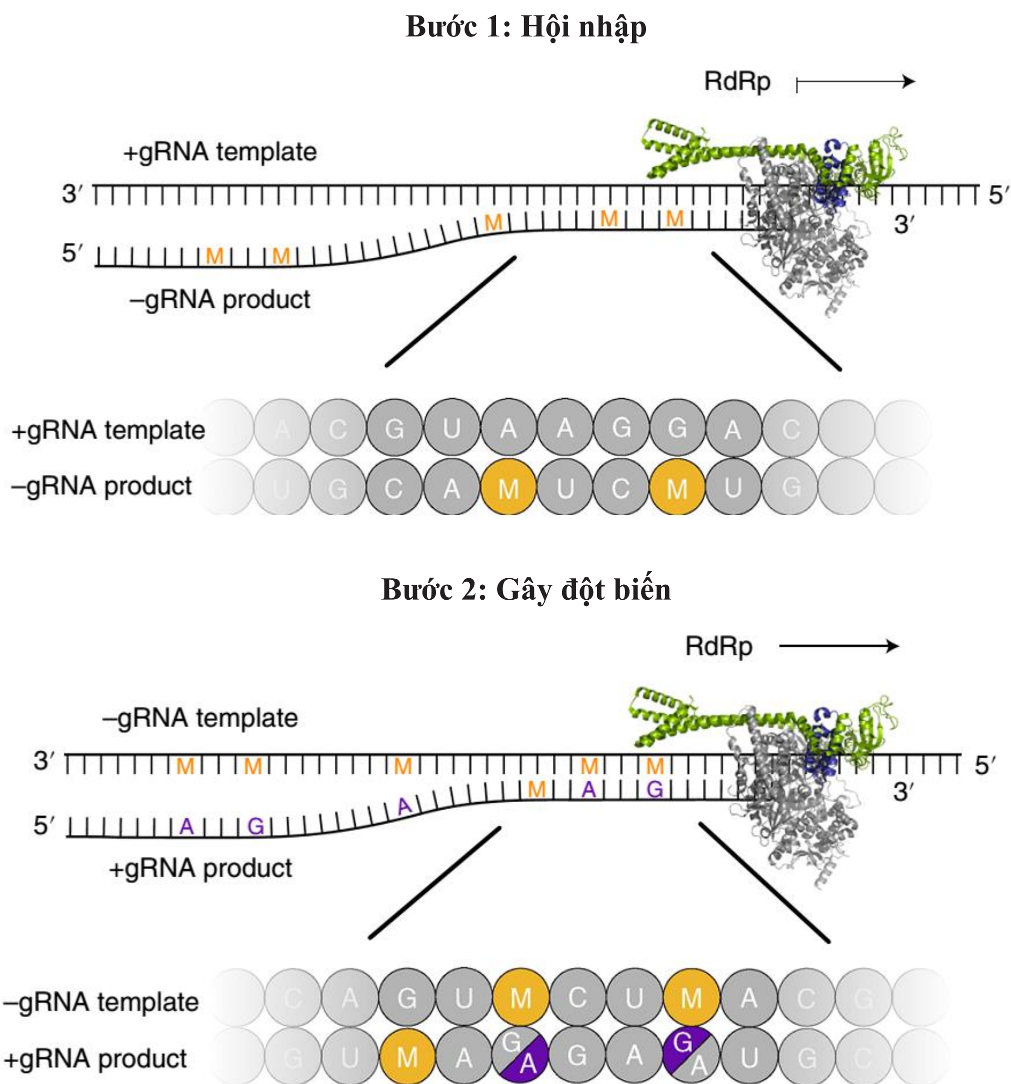


Hình 7.61. Hai dạng hỗ biến của NHC-MP và sự ghép cặp với GTP và ATP [120]

Phân tích sinh hóa hệ thống gợi ý một mô hình hai bước cho cơ chế gây đột biến RNA coronavirus do molnupiravir (Hình 7.62).

- Bước 1: NHC-TP (MTP) có thể được RdRp của SARS-CoV-2 sử dụng làm cơ chất thay vì CTP hoặc UTP. Do đó, RdRp được dự đoán sẽ thường xuyên kết hợp M thay vì C hoặc U vào RNA bộ gen sợi âm (−gRNA) [RNA bộ gen sợi dương (+gRNA) làm khuôn mẫu/template].

- Bước 2: −gRNA chứa M nucleotide có thể được sử dụng làm khuôn mẫu để tổng hợp +gRNA, dẫn đến các đột biến trong sản phẩm +gRNA, gây nên “thảm họa lỗi” làm cản trở việc hình thành các virus mới nguyên vẹn [121].



Hình 7.62. Mô hình hai bước của sự đột biến RNA do molnupiravir gây ra. RNA của trình tự ngẫu nhiên được trình bày, với M và các amino acid (residues) đột biến được biểu thị bằng các chữ cái màu cam và tím, tương ứng [121]

4.5. Thuốc ức chế NS5A của virus HCV (HCV NS5A inhibitors)

4.5.1. Protein NS5A

Protein 5A ‘non-structure’ (NS5A) của HCV là mối quan tâm phổ biến trong nghiên cứu HCV do khả năng điều biến đáp ứng interferon (IFN) của tế bào chủ. Protein này

được phosphoryl hóa trên nhiều vị trí bởi các kinase của tế bào chủ và tương tác với màng tế bào chủ. Mặc dù không có chức năng enzyme nào được biết, protein NS5A là một thành phần thiết yếu trong quá trình sao chép HCV và dẫn đến một loạt tác động đến các tiến trình tế bào, bao gồm khả năng miễn dịch bẩm sinh, sự phát triển và tăng sinh của tế bào chủ. NS5A tồn tại dưới dạng nhiều phospho-isoform và chủ yếu nằm trong các khoang tế bào chất/xung quanh nhân tế bào, bao gồm lưới nội chất (ER) và bộ máy Golgi. Vị trí của NS5A nhất quán với quan điểm rằng NS5A tương tác với nhiều protein tế bào chủ và của virus [70].

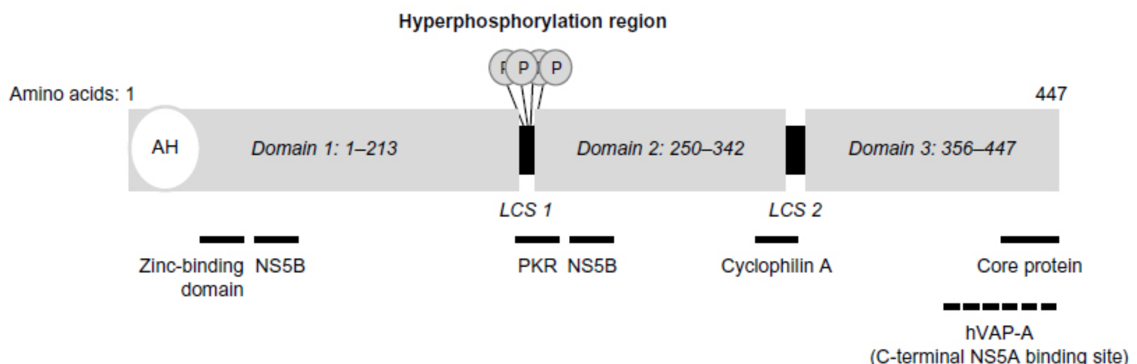
Phosphoprotein NS5A gồm 447 amino acid, bao gồm ba vùng chức năng và một chuỗi xoắn lưỡng cực ở đầu tận cùng, gắn kết nhưng không đi qua màng sinh học (Hình 7.63).

- Miền 1 (domain 1) chứa 'motif' gắn kết Zn^{2+} và nhiều gốc serine, đây là vị trí của quá trình phosphoryl hóa cơ bản và hyperphosphoryl hóa. Trạng thái phosphoryl hóa của NS5A có thể điều chỉnh chức năng sao chép và lắp ráp virus với dạng hyperphosphoryl hóa, có thể được tạo ra bởi tác động của lipid kinase của tế bào chủ (phosphatidylinositol 4-kinase) tham gia vào việc lắp ráp các virion.

- Miền 2 (domain 2) được chứng minh là liên kết với NS5B và có liên quan đến sự nhạy cảm của virus với liệu pháp interferon mặc dù còn nhiều tranh cãi về vấn đề này.

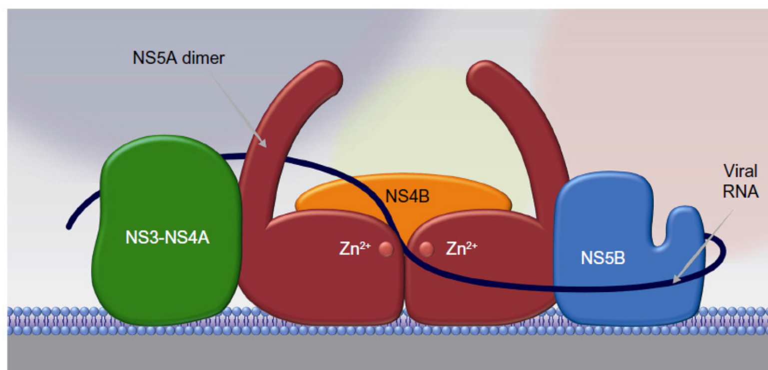
- Miền 3 (domain 3) có vẻ đóng vai trò trong quá trình sao chép của virus, miền này liên quan chủ yếu đến quá trình lắp ráp virion.

Protein NS5A được xem là tác nhân điều hòa chính quá trình sao chép của virus và sản xuất virion, điều phối cả protein virus và môi trường tế bào chủ để đảm bảo sản xuất và phóng thích thành công virus thế hệ sau.



Hình 7.63. Cấu trúc và chức năng NS5A; những vùng tương tác với protein virus và protein tế bào khác được tóm tắt bên dưới sơ đồ [71] (AH: amphipathic helix; hVAP-A: human vesicle-associated membrane protein-associated protein A; LCS: low-complexity sequence; PKR: protein kinase R)

Miền 1 của NS5A là một dimer liên kết với Zn^{2+}. Cấu trúc tinh thể của NS5A gợi ý sự tồn tại của hai cấu hình riêng biệt (giống như vuốt) có thể có các chức năng khác nhau trong quá trình sao chép (Hình 7.64).



Hình 7.64. NS5A hoạt động như một giá đỡ cho các protein khác trong phức hợp sao chép của virus [71]

4.5.2. Cơ chế tác dụng của các chất ức chế NS5A

Các chất ức chế NS5A làm giảm đáng kể nồng độ HCV RNA trong máu và do đó có thể được xem là thuốc kháng virus mạnh. Cơ chế tác dụng được cho là rất đa dạng nhưng cơ chế chính xác vẫn chưa được hiểu một cách đầy đủ. Hầu hết các nghiên cứu giả định rằng các chất ức chế NS5A hoạt động trên hai giai đoạn thiết yếu của vòng đời HCV: sự sao chép RNA và sự lắp ráp virion. Ngoài ra các chất ức chế NS5A có khả năng làm thay đổi các yếu tố của tế bào chủ [71,72,73].

Đặc trưng cấu trúc của chất ức chế NS5A là tính đối xứng dimeric, cho thấy các chất này tác động trên dimer của NS5A. Mặc dù cơ chế chưa được hiểu rõ hoàn toàn, nhưng các chất ức chế này hạn chế (downregulate) quá trình gia tăng phosphoryl hóa NS5A, dẫn đến ngăn chặn sự sao chép của HCV và tiến trình tạo polyprotein, cũng như dẫn đến sự định vị protein bất thường [72,74]. Cho đến nay, sự ức chế này được cho là chỉ tác động đến miền I của NS5A. Tuy nhiên, các nghiên cứu gần đây chỉ ra rằng cả hai miền I và II đều có liên quan đến sự gián đoạn quá trình sao chép RNA này [75].

Các chất ức chế NS5A có vẻ còn làm gián đoạn sự hình thành các phức hợp sao chép mới, làm chậm quá trình tổng hợp RNA của virus [76].

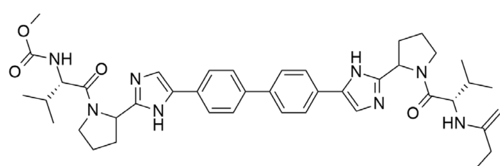
Các nghiên cứu cho thấy chất ức chế NS5A làm thay đổi vị trí của NS5A bên trong tế bào, có thể dẫn đến sự lắp ráp bất thường tạo ra virus dị dạng. Đồng thời, ức chế sự lắp ráp của virus có vai trò quan trọng trong quá trình giảm tổng hợp RNA hơn là giảm sự sao chép của virus [77].

4.5.3. Quan hệ cấu trúc - tác dụng

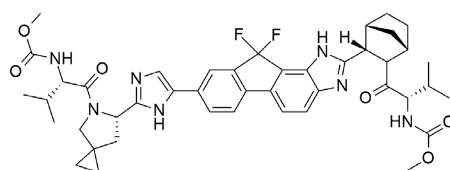
Các chất ức chế NS5A có sự tương đồng về cấu trúc, bao gồm hai phần peptide đối xứng qua một lõi trung tâm; hai phần peptide này thường chứa cấu trúc imidazole-proline. Cấu hình L tự nhiên của các dẫn xuất proline được cho là rất quan trọng đối với tác dụng ức chế vì cấu hình D có hoạt tính yếu hơn đáng kể. Hiệu lực của các chất ức chế NS5A nhạy cảm tương ứng với những thay đổi ở phần gắn với proline (capping proline), cho thấy vùng amine của các phân tử đóng một vai trò quan trọng trong hoạt tính ức chế [78]. Các nghiên cứu SAR chỉ ra rằng cả chiều dài và cấu dạng phân tử đều có ảnh hưởng đến hiệu lực kháng HCV, đặc biệt là sự thay đổi cấu dạng. Cấu dạng gần phẳng của phân tử là cần thiết để có hoạt tính mạnh [79].

Các ưu điểm của thuốc ức chế NS5A bao gồm hiệu lực cao và thời gian bán thải dài nên có thể dùng một lần trong ngày. Hai phần peptide có phần không đối xứng, như trong trường hợp ledipasvir, dẫn đến những lợi điểm riêng biệt cho việc tối ưu hóa hiệu lực của chất ức chế và dược động học [80].

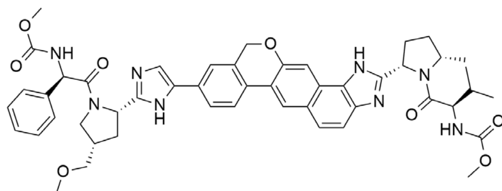
Cấu trúc của lõi trung tâm làm thay đổi khoảng cách giữa hai phần peptide, đồng thời tính thân dầu của lõi trung tâm ảnh hưởng đáng kể đến hoạt tính. Những phân tử với lõi trung tâm là các vòng hợp nhất luôn thể hiện hoạt tính ức chế mạnh hơn (cầu nối với tối đa hai nguyên tử được áp dụng để hạn chế cấu dạng của cấu trúc biphenyl như trong ledipasvir, velpatasvir). Các lõi trung tâm ít thân dầu hơn cho hoạt tính yếu hơn [81]. Ombistasvir với lõi trung tâm là dẫn chất pyrolidine và hai ‘linker’ là phenyl amide có hiệu lực được cải thiện đáng kể. Gần đây pibrentasvir được xem là chất ức chế NS5A thế hệ mới vì có hoạt tính mạnh chống lại các biến thể của virus HCV kháng ombistasvir và các chất ức chế NS5A thế hệ đầu khác. Pibrentasvir tạo rào cản di truyền cao đối với sự phát triển sự đề kháng ở tất cả các genotype phổ biến, với nồng độ thuốc trong huyết tương khi uống đủ để ngăn chặn sự nhân lên của HCV [82].



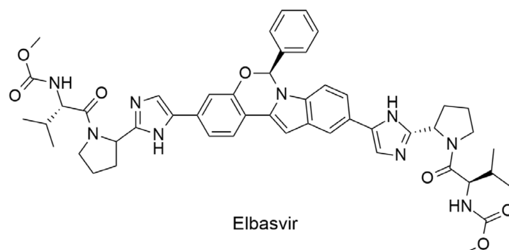
Daclatasvir



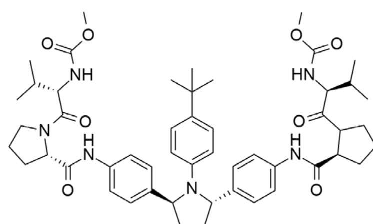
Ledipasvir



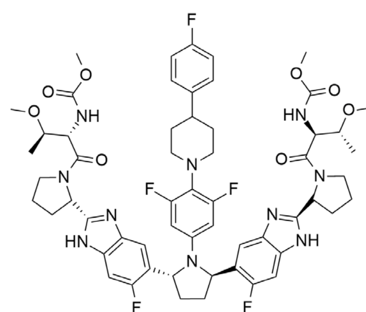
Velpatasvir



Elbasvir



Ombitasvir



Pibrentasvir

Hình 7.65. Cấu trúc của các chất ức chế NS5A HCV

4.5.4. Sử dụng

Các chất ức chế NS5A đặc biệt hiệu quả trong điều trị HCV khi được dùng kết hợp với các chất ức chế protease (ritonavir), chất ức chế NS5B (sofosbuvir), peg-interferon (peginterferon alfa-2a) và các chất tương đồng nucleotide (ribavirin) [83]. Dạng viên uống phối hợp: Ledipasvir (90 mg)/ sofosbuvir (400 mg); Daclatasvir (60 mg)/ sofosbuvir (400 mg); Ombitasvir (12.5 mg)/ paritaprevir (75 mg)/ ritonavir (50 mg); Velpatasvir (100 mg)/ sofosbuvir (400 mg); Elbasvir (50 mg)/ grazoprevir (100 mg); Pibrentasvir (40 mg)/ glecaprevir (100 mg).

4.5.5. Sự đề kháng

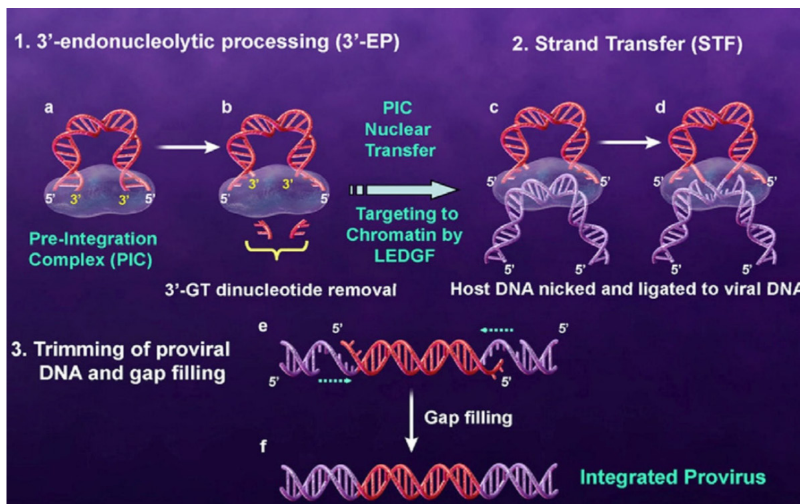
Các chất ức chế NS5A có ngưỡng kháng thuốc tương đối thấp và các biến thể có liên quan đến kháng thuốc NS5A có thể tồn tại đến sáu tháng ở bệnh nhân sau khi ngừng điều trị. Do đó, các liệu pháp kết hợp cho hiệu quả cao hơn và thời gian điều trị ngắn hơn.

5. THUỐC ỨC CHẾ ENZYME INTEGRASE CỦA HIV (Integrase inhibitors)

5.1. Integrase (IN) HIV

Mỗi hạt virus HIV chứa 40 - 100 phân tử integrase (IN) tạo thuận lợi cho quá trình chèn cDNA (complementary DNA) của virus vào bộ gen của tế bào chủ.

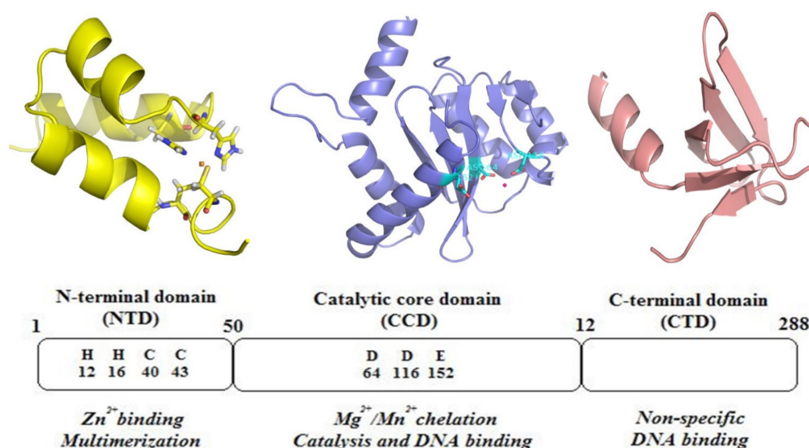
Sau khi nhiễm tế bào chủ, RNA của virus được chuyển thành cDNA thông qua tác động của enzyme sao chép ngược (RT). Để chèn cDNA vào bộ gen tế bào chủ, đầu 3' của DNA virus cần được cắt (trimming) qua trung gian integrase [3'-endonucleolytic processing (3'-EP)], tiến trình này xảy ra trong tế bào chất. DNA đã được xử lý cùng với phức hợp integrase, chứa protein virus và tế bào tạo ra phức hợp tiền hội nhập (preintegration). Phức hợp này được chuyển đến nhân tế bào chủ, tại đó quá trình kết hợp vào DNA tế bào chủ xảy ra qua xúc tác của integrase, được gọi là quá trình chuyển sợi [Strand Transfer (STF)], nhóm 3'-OH của cDNA được kết hợp vào 5'-phosphate của nhiễm sắc thể tế bào chủ với cả 2 đầu của cDNA được gắn vào DNA tế bào chủ. Sự kết hợp vô cùng phức tạp này của cDNA vào bộ gen tế bào chủ đòi hỏi nhiều protein của cả tế bào chủ và virus. Sau quá trình STF, hai nucleotide bắt cặp sai ở đầu 5' của DNA virus bị loại bỏ và các sợi được gắn hoàn toàn vào bộ gen tế bào chủ bằng các enzyme sửa chữa (proviral DNA trimming, gap filling). Quá trình kết hợp này là một bước quan trọng chỉ có trong vòng đời của HIV-1 và không có protein tương tự IN ở người, do đó IN được coi là đích tác động đáng được quan tâm để phát triển thuốc [1].



Hình 7.66. Tiến trình hội nhập cDNA HIV vào bộ gen của tế bào chủ [97]

Integrase của HIV là một protein thuộc nhóm polynucleotidyl transferase, gồm ba miền (domain): (1) miền tận cùng amino (NTD), (2) miền nhân xúc tác (catalytic

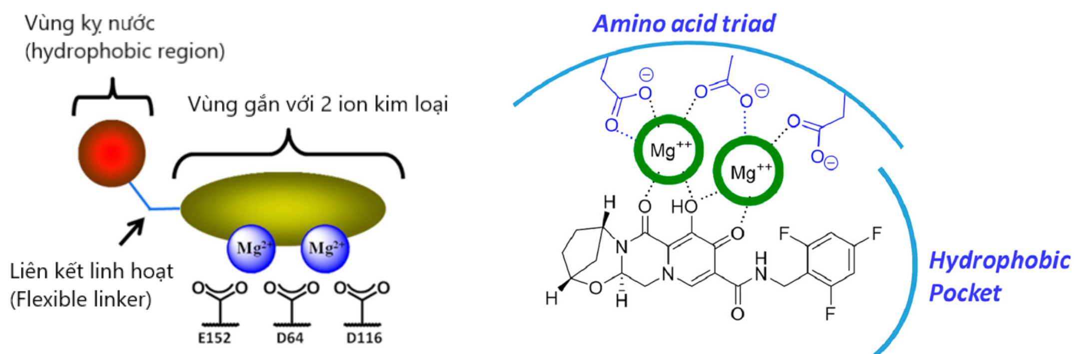
core domain – CCD) và (3) miền tận cùng carboxy (CTD). Cả ba miền đều quan trọng cho quá trình kết hợp, trong khi chỉ CCD là cần thiết cho phản ứng ngược, được gọi là 'disintegration'. Miền tận cùng amino gắn kẽm (Zn^{2+}), trong khi CCD gắn manganese (Mn^{2+}) và magnesium (Mg^{2+}) [98]. Các chất ức chế IN (raltegravir, elvitegravir, dolutegravir, bictegravir, cabotegravir) tác động bằng cách ức chế sự kết hợp cDNA thông qua chelate hóa các cation hóa trị hai ở CCD tại giao diện của phức hợp 'integrase-donor-acceptor'.



Hình 7.67. Cấu trúc integrase của HIV [98]

5.2. Thuốc ức chế integrase của HIV

Các chất ức chế integrase chứa hai đặc điểm cấu trúc phổ biến để có thể gắn kết tại vị trí xúc tác của integrase: (1) nhóm benzyl thế halogen, gắn kết trong túi kị nước gần vị trí xúc tác; và (2) một bộ ba nguyên tử oxy chelate hóa (hoặc bộ đôi trong trường hợp elvitegravir) có thể tạo liên kết phối trí với hai ion Mg^{2+} [99].



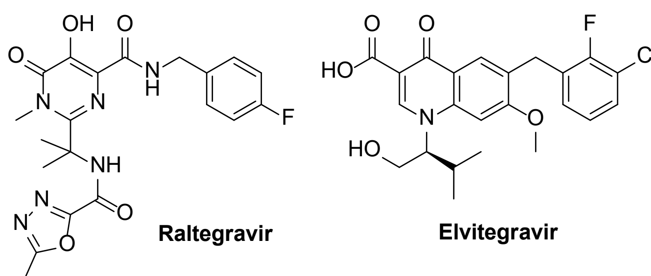
Hình 7.68. (Trái) Mô hình pharmacophore gắn với hai ion kim loại của các chất ức chế integrase [98]; (Phải) một ví dụ tương tác của bictegravir [99]

5.3. Sử dụng

5.3.1. Raltegravir

Được FDA phê duyệt vào năm 2007, raltegravir là chất ức chế integrase đầu tiên được dùng điều trị bệnh nhân AIDS nặng, đa kháng thuốc. Raltegravir được dung nạp tốt nhưng một phần nhỏ bệnh nhân chọn lọc các đột biến kháng thuốc trong gen IN. Đề kháng với raltegravir phát sinh từ ba đột biến chính ở vị trí 155 (N155H), 143 (Y143R) và 148 (đột biến kép G140S/Q148H).

Raltegravir hấp thu dễ dàng qua đường uống. Thuốc gắn kết nhiều với protein huyết tương (83%). Thức ăn có vẻ không ảnh hưởng đến sự hấp thu. Đường chuyển hóa chính là glucuronide hóa qua trung gian uridine diphosphate-glucuronosyl-transferase. Khoảng 51% thuốc được tìm thấy trong phân dưới dạng không thay đổi, 32% tìm thấy trong nước tiểu, trong đó 23% dưới dạng glucuronide. Raltegravir được đề nghị sử dụng phối hợp với các thuốc kháng retrovirus khác trong điều trị nhiễm HIV ở những bệnh nhân có biểu hiện đề kháng với những chế độ điều trị trước đó. Sử dụng 2 lần/ngày. Dạng liều lượng 200 mg, 400 mg, 600 mg.



Hình 7.69. Raltegravir và elvitegravir

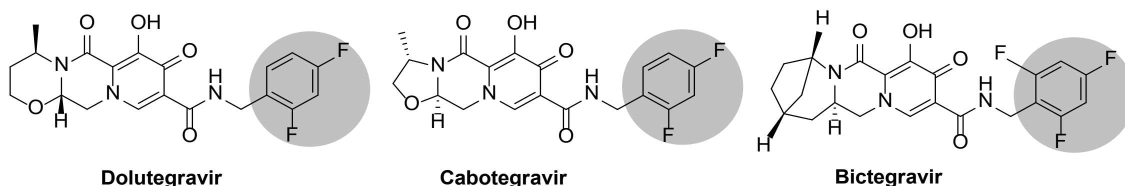
5.3.2. Elvitegravir

Elvitegravir có cấu trúc tương tự kháng sinh nhóm quinolone, là chất ức chế integrase thứ hai được phê duyệt để điều trị HIV/AIDS vào năm 2012, thường được sử dụng kết hợp với các thuốc kháng virus khác. Khi uống elvitegravir và ritonavir với thức ăn, ở những đối tượng nhiễm HIV-1, nồng độ đỉnh của elvitegravir trong huyết tương đạt được sau 4 giờ. Elvitegravir liên kết 98 - 99% với protein huyết tương người. Chất này trải qua quá trình chuyển hóa oxy hóa chủ yếu qua CYP3A, và được glucuronide hóa. Sau khi uống elvitegravir/ritonavir, 94.8% liều dùng được tìm thấy trong phân, trong khi 6.7% được tìm thấy trong nước tiểu dưới dạng chuyển hóa.

Các đột biến đơn lẻ trong gen integrase đủ để tạo ra mức độ đề kháng cao, mặc dù các đột biến kết hợp thường được phát hiện. Giảm nhạy cảm với elvitegravir có liên quan đến T66A/I, E92G/Q, S147G hoặc Q148R.

Elvitegravir chỉ có ở dạng viên kết hợp liều cố định với liều lượng tiêu chuẩn dành cho người lớn (150 mg), dùng một lần/ngày.

5.3.3. Dolutegravir, bictegravir, cabotegravir



Hình 7.70. Dolutegravir, cabotegravir và bictegravir

Dolutegravir, bictegravir và cabotegravir có cấu trúc tương tự nhau; khác nhau chủ yếu ở phần bán aminal [vòng 6 cạnh (dolutegravir), vòng 5 cạnh (cabotegravir) và bicyclo (bictegravir)].

Dolutegravir

Được phê duyệt vào tháng 8 năm 2013, dolutegravir chỉ được sử dụng kết hợp với các thuốc kháng retrovirus khác trong điều trị nhiễm HIV, hoạt tính chống lại một số chủng kháng raltegravir và elvitegravir.

Khi dùng một liều dolutegravir uống duy nhất, 53% bài tiết dưới dạng không đổi qua phân và 31% bài tiết qua nước tiểu. Dạng được thải trừ qua thận bao gồm ether glucuronide của dolutegravir (18.9%), một chất chuyển hóa được hình thành bằng quá trình oxy hóa ở carbon benzylic (3.0%), sản phẩm *N*-dealkyl hóa (3.6%) và dạng không đổi (< 1%).

Dolutegravir được chuyển hóa thông qua ba con đường chính và tạo thành chất chuyển hóa không tồn tại lâu dài: Glucuronide hóa bởi UGT1A1, oxy hóa carbon bởi CYP3A4 và defluor oxy hóa và liên hợp glutathione.

Sử dụng ở dạng muối natri. Dạng viên nén 50 mg.

Tình trạng kháng dolutegravir chưa được báo cáo trên lâm sàng, nhưng đột biến integrase G118R, E138K, Q148K, R263K và H51Y đã được phát hiện trong các tế bào bị nhiễm được nuôi cấy khi có sự hiện diện của dolutegravir.

Bictegravir

Được FDA phê duyệt năm 2018, bictegravir được sử dụng ở dạng muối natri; dùng đường uống, thuốc được hấp thu nhanh chóng trong cơ thể, trên 99% gắn với huyết tương. Bictegravir được chuyển hóa ở gan và thận, CYP3A4 và UGT1A là các enzyme chính tham gia vào quá trình chuyển hóa của bictegravir. Thuốc được đào thải thông qua quá

trình glucuronide hóa. Khoảng 1% liều bictegravir được bài tiết qua nước tiểu ở dạng không đổi.

Dạng viên nén phối hợp với các thuốc kháng virus khác như emtricitabine, tenofovir.

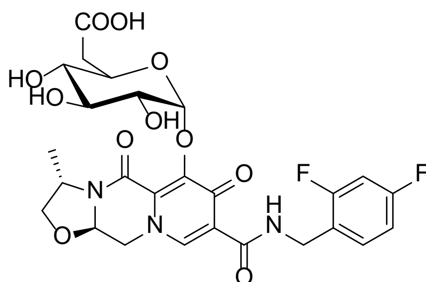
Cabotegravir

Bột kết tinh từ trắng đến trắng nhạt, thực tế không tan trong dung dịch nước có pH dưới 9 và hòa tan nhẹ ở pH trên 10. Cabotegravir có tính acid nhẹ với pK_a là 7.7 (enolic acid). Phân tử có hai nguyên tử carbon bất đối, chỉ một trong bốn đồng phân có hoạt tính.

Cabotegravir được FDA phê duyệt cho sử dụng vào tháng 01 năm 2021, có sẵn ở dạng viên nén và dạng tiêm bắp, cũng như dạng tiêm kết hợp với rilpivirine. Khi uống, cabotegravir đạt nồng độ cao nhất trong huyết tương sau ba giờ. Sau khi tiêm bắp, cabotegravir được hấp thu chậm vào máu, đạt nồng độ cao nhất trong huyết tương sau khoảng bảy ngày. Hơn 99% cabotegravir được liên kết với protein huyết tương. Thuốc bị bất hoạt trong cơ thể bởi quá trình glucuronide hóa, chủ yếu là bởi enzyme UGT1A1 và ở mức độ thấp hơn nhiều bởi UGT1A9. Tuy nhiên, hơn 90% chất trong tuần hoàn là cabotegravir dưới dạng không đổi. Thời gian bán thải là 41 giờ đối với viên nén và 5.6 đến 11.5 tuần đối với thuốc tiêm.

Không được kết hợp cabotegravir với các thuốc rifampicin, rifapentine, carbamazepine, oxcarbazepine, phenytoin hoặc phenobarbital, những chất này gây cảm ứng enzyme UGT1A1, làm giảm đáng kể nồng độ cabotegravir trong cơ thể và do đó có thể làm giảm hiệu quả của thuốc.

Sự thải trừ chỉ được nghiên cứu cho dạng dùng đường uống: Phần lớn thuốc được thải trừ qua phân ở dạng không đổi (47%). Hiện không rõ số lượng này đến từ mật là bao nhiêu và bao nhiêu do không được hấp thu ngay từ đầu (hoạt chất bị glucuronide hóa và thải ở mật, nhưng chất này có thể bị phân hủy một lần nữa trong lòng ruột để tạo ra chất ban đầu quan sát được trong phân). Ở mức độ thấp hơn, thuốc được bài tiết qua nước tiểu (27%), hầu như chỉ là dạng glucuronide.



Hình 7.71. Cabotegtavir glucuronide (chất chuyển hóa chính trong mật và nước tiểu)

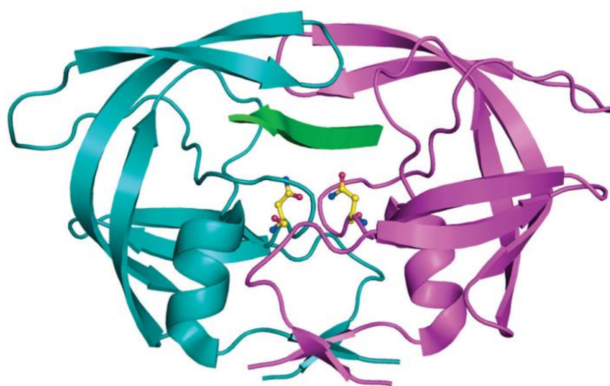
6. THUỐC ỨC CHẾ ENZYME PROTEASE (Protease inhibitors)

6.1. Thuốc ức chế protease của virus HIV (HIV protease inhibitors)

6.1.1. Protease của HIV và chất ức chế protease HIV

Protease của HIV là enzyme cần thiết cho sự phát triển của virus và có chức năng làm trung gian cho quá trình biến đổi sau dịch mã của các protein lõi thành các protein cấu trúc. Các protein cấu trúc p7, p9, p17 và p24, đóng vai trò quan trọng trong việc lây nhiễm HIV, là sản phẩm của gen *pol*.

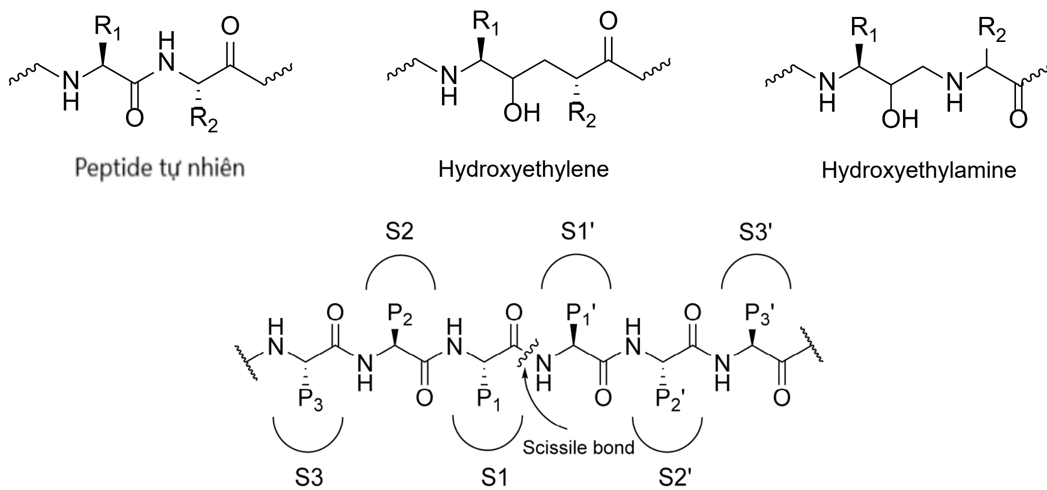
Bộ gen của HIV chứa các vùng khác nhau được chỉ định là gen, chẳng hạn như gen *gag* và *gag-pol*, được dịch mã thành polyprotein và hình thành các hạt virus chưa trưởng thành. Các phân tử protein tiền chất này bị phân cắt bởi protease aspartic (cũng được mã hóa ở gen *pol* của virus) để tạo thành protein cấu trúc mong muốn của hạt virus trưởng thành. Ngoài ra, protease của HIV cũng kích hoạt RT và đóng vai trò quan trọng trong việc giải phóng các hạt virus lây nhiễm. Do đó, phát triển các loại thuốc hoạt động như chất ức chế protease và gen *pol* là một lĩnh vực thu hút nhiều sự quan tâm. Các chất ức chế này có hoạt tính trên protease của HIV và ngăn chặn quá trình xử lý sau dịch mã và sự "nảy chồi" (budding) của các phần tử virus chưa trưởng thành khỏi các tế bào bị nhiễm. Nhóm thuốc này tạo ra một bước đột phá lớn trong điều trị HIV khi được sử dụng kết hợp với các chất ức chế RT và là một trong những tiến bộ quan trọng nhất trong hóa dược.



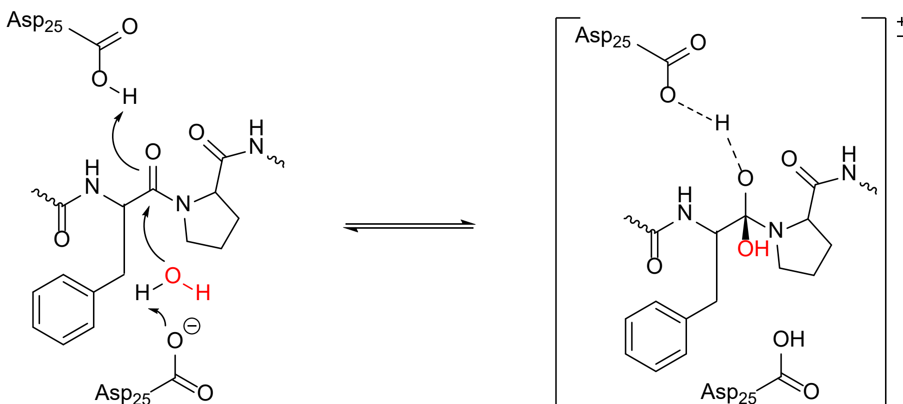
Hình 7.72. Sơ đồ 'ribbon' về cấu trúc tinh thể của phức chất nền của protease 'homo-dimer' HIV-1 (1kj7) (Prabu-Jeyabalan et al. 2002). Mỗi monomer được biểu diễn bằng màu lục lam và màu hồng; cơ chất được biểu diễn bằng màu xanh lá cây và các aspartic acid xúc tác được đánh dấu bằng màu vàng [100]

Protease của HIV tồn tại ở dạng dimer, trong đó mỗi monomer chứa một gốc aspartate được bảo tồn tại vị trí xúc tác. Có nhiều vị trí cắt trên tiền chất protein, nhưng enzyme này thủy phân chọn lọc liên kết peptide ở đầu cuối amino của proline. Như trong Hình 7.73, các amino acid P bên cạnh liên kết có thể cắt được ký hiệu P1, P2,..., ở đầu

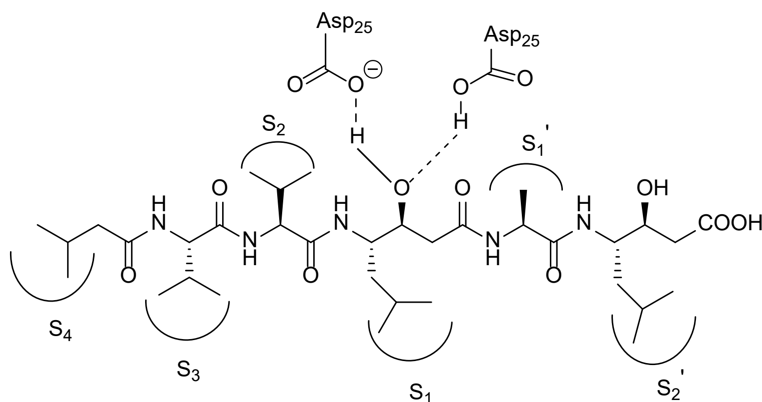
cuối amino và P’1, P’2,... ở đầu cuối carboxyl của vị trí phân cắt. Các túi tương ứng trên enzyme chịu trách nhiệm cho sự gắn các nhóm P được gọi S_1, $S_{2,}$ $S_{1'}$, $S_{2'}$,… Tại vị trí xúc tác, một cặp aspartate (Asp25 trên mỗi tiểu đơn vị protein) hoạt động cùng nhau để hoàn thành phản ứng. Một bên phối hợp với nước để thực hiện phản ứng thủy giải, trong khi bên còn lại phối hợp với nhóm carboxyl trên amino acid $P_{1'}$. Nhóm hydroxy của trạng thái chuyển tiếp (transition-state core) liên kết hydro với hai nhóm carboxylate Asp25 ở một khoảng cách khoảng 3Å. Thuốc ức chế protease HIV được thiết kế để mô phỏng trạng thái chuyển tiếp, hướng vào vị trí xúc tác của protease. Các cấu trúc mô phỏng trạng thái chuyển tiếp được dùng để tạo các chất ức chế mạnh protease aspartic bao gồm cấu trúc hydroxyethylene và hydroxyethylamine [1].



Hình 7.73. Sơ đồ tương tác giữa protease-cơ chất. Danh pháp Schechter-Berger* được sử dụng để mô tả các tương tác giữa protease-cơ chất. Các chuỗi bên (P) được đánh số theo vị trí của chúng so với vị trí phân cắt (liên kết cắt kéo). Các túi gắn kết xung quanh một vị trí có thể bị cắt bởi protease được ký hiệu là S [101]



Vai trò của 2 'residue' Asp25 trong việc thành lập trạng thái chuyển tiếp thủy giải.



Hình 7.74. Nguyên tắc thiết kế các chất ức chế HIV protease tương đồng trạng thái chuyển tiếp [1]

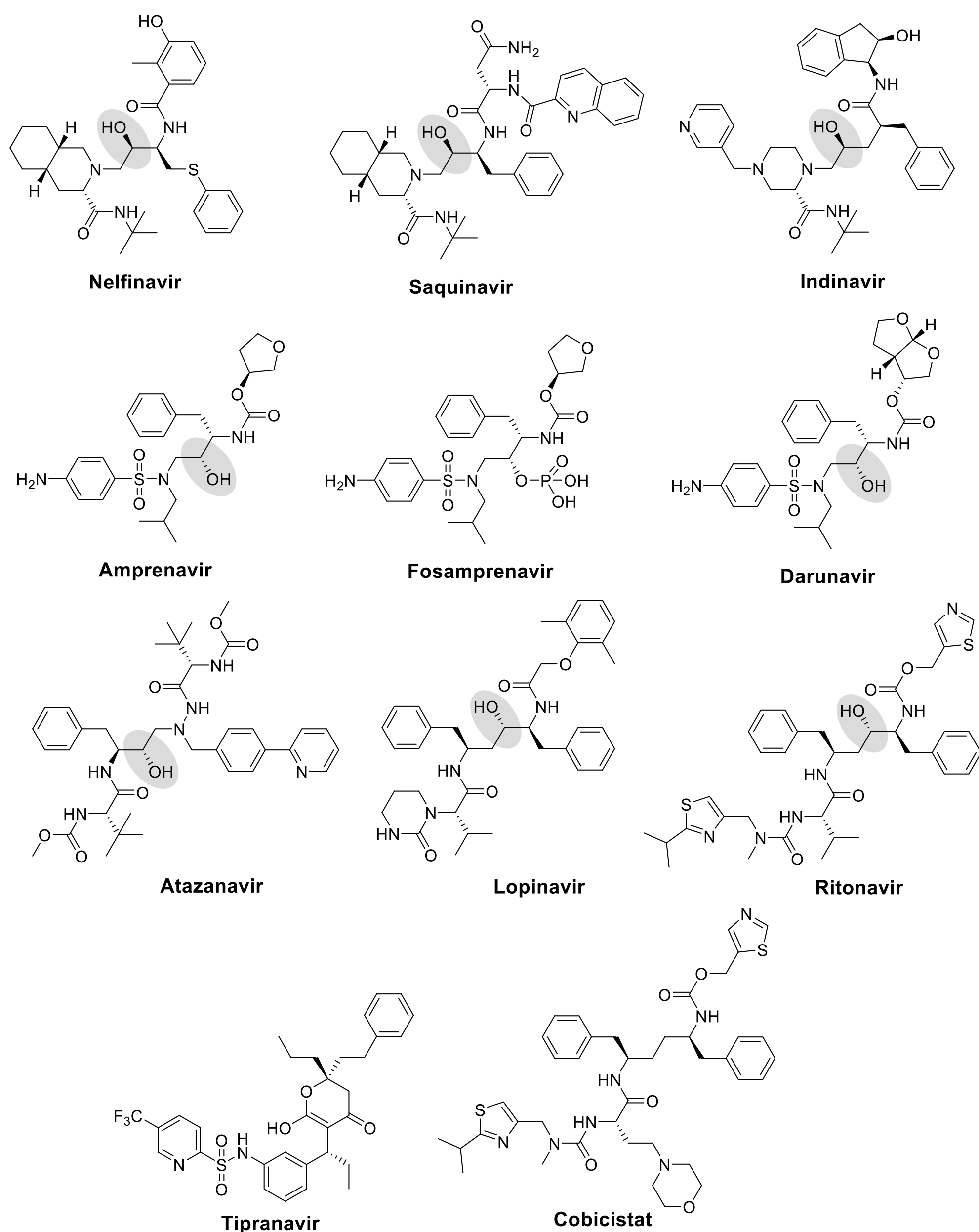
6.1.2. Cấu trúc các thuốc ức chế protease HIV

- Thuốc ức chế protease HIV mô phỏng peptide (peptidomimetic)

Tất cả các chất ức chế protease được phê duyệt hiện tại trong điều trị nhiễm HIV như saquinavir, ritonavir, indinavir, nelfinavir, lopinavir và atazanavir có chung một thành phần cấu trúc, hydroxyethylene (thay vì liên kết peptide bình thường), khiến các thuốc này trở thành những chất tương đồng với cơ chất của protease, "mô phỏng peptide" nhưng không thể bị cắt. Hiệu quả của thuốc liên quan đến khả năng ức chế tiến trình xử lý polyprotein tiền chất *gag-pol* thành các protein cấu trúc. Kết quả là làm giảm tính lây nhiễm của HIV-1.

- Thuốc ức chế protease HIV có cấu trúc không tương đồng peptide (non-peptide)

Chất ức chế protease mô phỏng peptide có hiệu quả điều trị trong kết hợp thuốc với NRTIs và NNRTIs trong điều trị nhiễm HIV. Tuy nhiên các kết hợp cũng gặp một số khó khăn như tương tác thuốc - thuốc, đề kháng chéo và tác dụng phụ dài như loạn dưỡng chất béo, rối loạn chuyển hóa (tiểu đường) và tim mạch. Điều này thúc đẩy việc khám phá chất ức chế protease không tương đồng peptide. Tipranavir chứa nhân 4-hydroxy-5,6-dihydro-2-pyrone, đã được phê duyệt đưa vào điều trị.



Hình 7.75. Các chất ức chế protease

6.1.3. Kết hợp thúc đẩy hoạt tính chất ức chế protease HIV

Bước tiến lớn tiếp theo trong việc sử dụng các chất ức chế protease (PI) là khi nhận ra ritonavir làm giảm chuyển hóa các PI dùng đồng thời thông qua ức chế cytochrom P450 3A4 ở gan và ruột, dẫn đến cải thiện đáng kể sinh khả dụng và thời gian bán hủy của các PI này. Sự kết hợp đầu tiên được sử dụng trong các thử nghiệm lâm sàng là saquinavir và ritonavir (400 mg mỗi lần uống).

Việc sử dụng PI tăng cường kép (double-boosted PI) cũng được nghiên cứu để có được hoạt tính kháng virus hiệp đồng hoặc cộng hợp của cả hai loại thuốc và giảm khả năng đề kháng. Mặc dù không có thử nghiệm lớn, ngẫu nhiên nào đánh giá hiệu quả lâm sàng của phác đồ PI tăng cường kép được báo cáo, nhưng một số nghiên cứu so sánh và 'cohort' cho thấy hiệu quả tiềm năng của các phối hợp như lopinavir/ritonavir với hoặc saquinavir hoặc atazanavir…

Sự phát triển của các hợp chất thúc đẩy (boosting compound) mới cho ra đời cobicistat, một chất ức chế cytochrome mạnh, nhưng không có hoạt tính ức chế protease. Cobicistat được sử dụng để gia tăng dược động học của một số chất kháng HIV-1. Khi dùng, cobicistat ức chế men gan CYP3A4 và hạn chế sự phân hủy của các tác nhân dùng chung (được chuyển hóa bởi CYP3A4), đồng thời làm tăng nồng độ, mức độ tiếp xúc toàn thân và hiệu quả của thuốc [100].

6.1.4. Các chất ức chế protease HIV được sử dụng trong lâm sàng

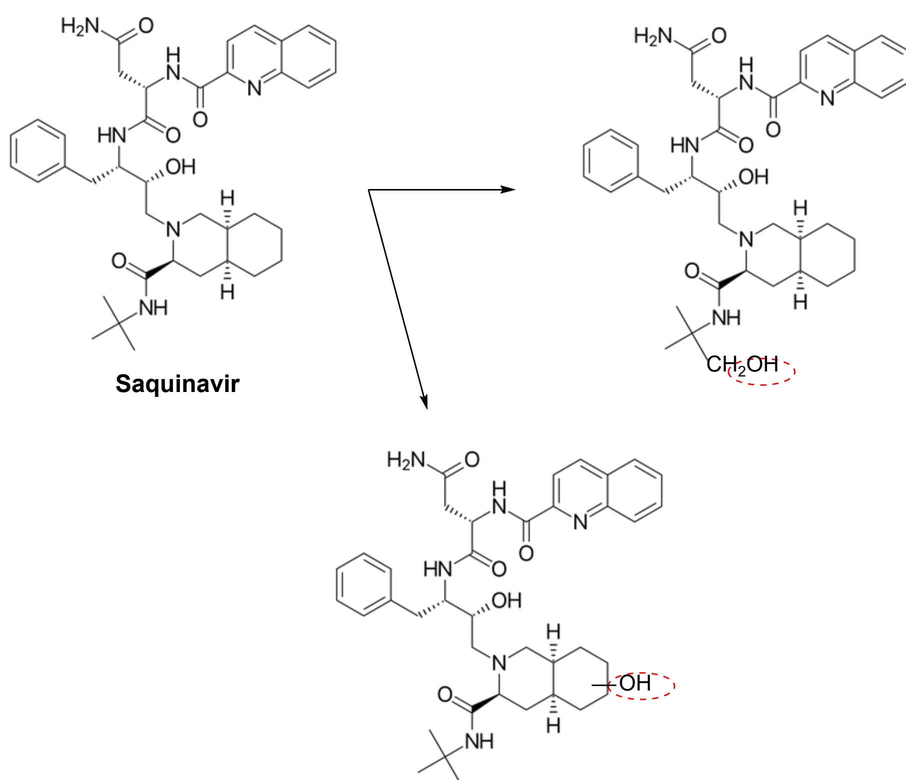
Saquinavir mesylate

Dạng chất rắn kết tinh màu trắng, tan trong DMSO ≥ 5 mg/5 mL. Điểm chảy 241 °C.

Đây là PI đầu tiên được FDA phê duyệt (12/1995). Saquinavir là dẫn xuất carboxamide được dùng để điều trị bệnh nhân nhiễm HIV tiến triển. Khi sử dụng phối hợp với ZDV, ddC hay ddI, hoạt tính của saquinavir gia tăng mà không gia tăng độc tính tế bào. Sự đề kháng saquinavir quan sát được do đột biến thay thế ở protease HIV tại vị trí 48 (glycine thành valine) và 90 (leucine thành methionine).

Sinh khả dụng của saquinavir ở liều duy nhất 600 mg sau bữa ăn nhiều chất béo vào khoảng 4%. Khoảng 30% liều 600 mg saquinavir đến gan, tại đó thuốc bị chuyển hóa bước đầu. Các chất chuyển hóa là những sản phẩm monohydroxyl hóa không hoạt tính (Hình 7.76). Khoảng 88% và 19% liều 600 mg được tìm thấy lần lượt trong phân và nước tiểu. Thuốc gắn với 98% protein huyết tương và rất ít thuốc được tìm thấy trong dịch não tủy. Saquinavir có $T_{1/2}$ khoảng 1.8 giờ. Dạng bào chế: viên nang cứng và nang mềm.

Do sự hấp thu hạn chế và chuyển hóa bước đầu rộng rãi bởi cytochrome P450 3A ở gan, sinh khả dụng đường uống rất thấp của saquinavir, thuốc này phải được uống ba lần mỗi ngày với các bữa ăn có hàm lượng chất béo cao để đạt được sự hấp thu cao hơn. Một thử nghiệm liều cao hơn tới 4 lần so với liều đã đăng ký cho thấy mức giảm HIV-RNA lớn hơn và bền vững hơn nhiều; như vậy tiềm năng kháng virus cao hơn nếu có thể khắc phục được sự hấp thu quá kém của saquinavir. Để giải quyết vấn đề này, saquinavir được phát triển dưới dạng viên nang gel mềm cung cấp khả năng tiếp xúc hệ thống nhiều hơn [102].



Hình 7.76. Sản phẩm chuyển hóa của saquinavir [1]

Saquinavir được dung nạp tốt khi phối hợp với ZDV và/hoặc ddC và ít có tác dụng phụ. Tuy nhiên, rối loạn tiêu hóa là những tác dụng phụ thường gặp. Saquinavir cũng có một số tác dụng phụ nhẹ như nhức đầu, viêm mũi, buồn nôn và tiêu chảy.

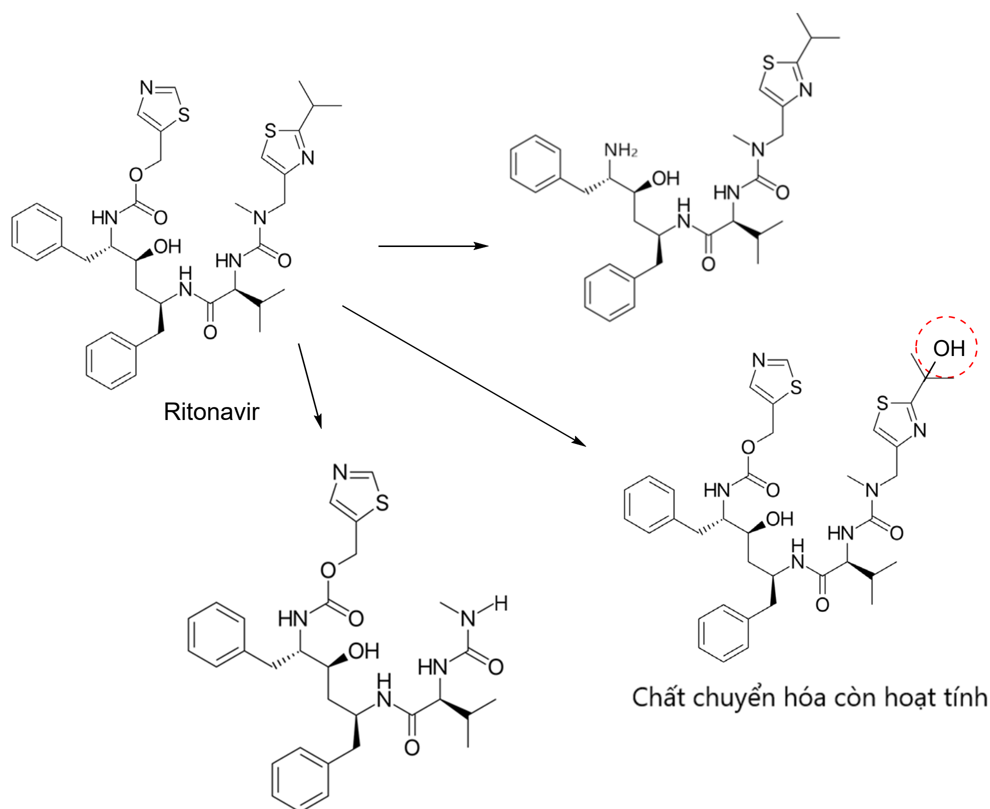
Ritonavir

Bột trắng; thực tế không tan trong nước, tan trong isopropanol, dễ tan trong methanol và ethanol.

Sau một liều 600 mg dạng dung dịch uống, nồng độ đỉnh ritonavir đạt được sau 2 giờ (uống lúc đói) và sau 4 giờ (uống lúc no). Năm chất chuyển hóa của ritonavir được phát hiện từ phân và nước tiểu người, sản phẩm oxy hóa isopropyl thiazole là chất chuyển hóa chính, có hoạt tính (Hình 7.77). Thời gian bán thải của ritonavir là 3 - 5 giờ.

Giai đoạn hấp thu kéo dài và thời gian bán hủy của ritonavir cho phép thuốc được sử dụng hai lần mỗi ngày. Khi được sử dụng dưới dạng đơn trị liệu, ritonavir làm giảm đáng kể nồng độ HIV-RNA trong huyết tương và tăng số lượng tế bào CD4. Việc sử dụng đơn trị liệu ritonavir trong thời gian dài thường dẫn đến sự đề kháng ritonavir được đặc trưng bởi các đột biến ở các vị trí 46I, 54V, 82 và 84.

Như saquinavir, ritonavir được chuyển hóa bởi CYP3A4 và là chất ức chế CYP450. Ritonavir bị chống chỉ định kết hợp với nhiều hợp chất như clarithromycin, desipramine, ethinyl estradiol, rifabutin, sulfamethoxazole và trimethoprime vì làm tăng nồng độ những chất này trong huyết tương do sự chuyển hóa oxy hóa bị ức chế.

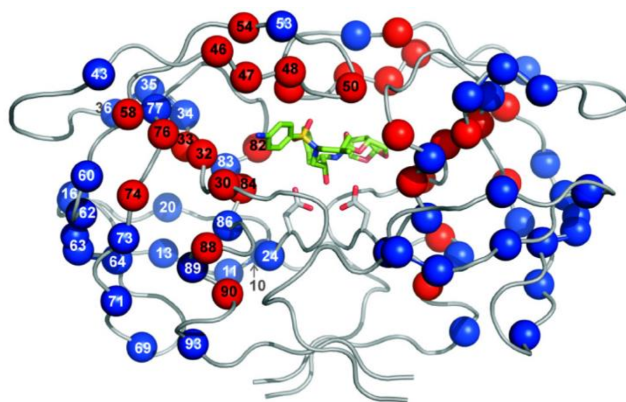


Hình 7.77. Sản phẩm chuyển hóa chính của ritonavir từ CYP3A4 [1]

Ritonavir dùng một mình hay kết hợp với 3TC, ZDV, saquinavir hay ddC làm gia tăng lượng tế bào $CD4^+$ và giảm mức độ HIV RNA.

Các tác dụng phụ có hại thường gặp, chẳng hạn như buồn nôn, tiêu chảy, nôn mửa, chán ăn, đau bụng và rối loạn thần kinh, đã được báo cáo khi sử dụng ritonavir một mình hoặc kết hợp với các chất tương tự nucleoside khác.

Do khả năng ức chế P450 3A4 của ritonavir, mô hình điều trị dựa trên PI thay đổi từ việc sử dụng ritonavir như một PI đơn lẻ sang thúc đẩy tác dụng các PI khác, bằng cách kết hợp với ritonavir để tăng thời gian bán thải của các PI dùng kèm. Điều này kéo dài nồng độ PI dùng kèm trong máu, làm tăng hiệu lực, giảm liều lượng cần thiết và giảm thiểu tác dụng phụ của PI. Theo cách tương tự, việc tăng cường ritonavir tác động đến các yêu cầu về liều lượng của các nhóm tác nhân kháng virus khác, bao gồm cả chất đối vận co-receptor CCR5, maraviroc [100].



Hình 7.78. Cấu trúc 3D dimer protease của HIV biểu diễn các đột biến chính và phụ liên quan đến sự đề kháng các chất ức chế protease (Johnson và cộng sự, 2008). Các amino acid đột biến được biểu diễn bằng các khối cầu, màu đỏ và xanh cho các đột biến chính và phụ, tương ứng. Các aspartate của vị trí xúc tác và darunavir (xanh lá) liên kết với vị trí này được thể hiện bằng các que. Hình được tạo ra bằng cách sử dụng cấu trúc của HIV protease có nguồn gốc từ bệnh nhân đột biến cao (Saskova và cộng sự, 2009) (PDB 3GGU)

Indinavir

Indinavir, một dẫn xuất piperazine carboxamide, chứa nhóm *N*-(2-hydroxyethyl) piperazine, sử dụng ở dạng muối sulfate, được FDA phê duyệt vào tháng 3 năm 1996.

Indinavir sulfate là dạng bột kết tinh từ trắng đến trắng nhạt, háo ẩm. Điểm chảy 167.5 - 168 °C. Độ tan trong nước: 0.015 mg/mL.

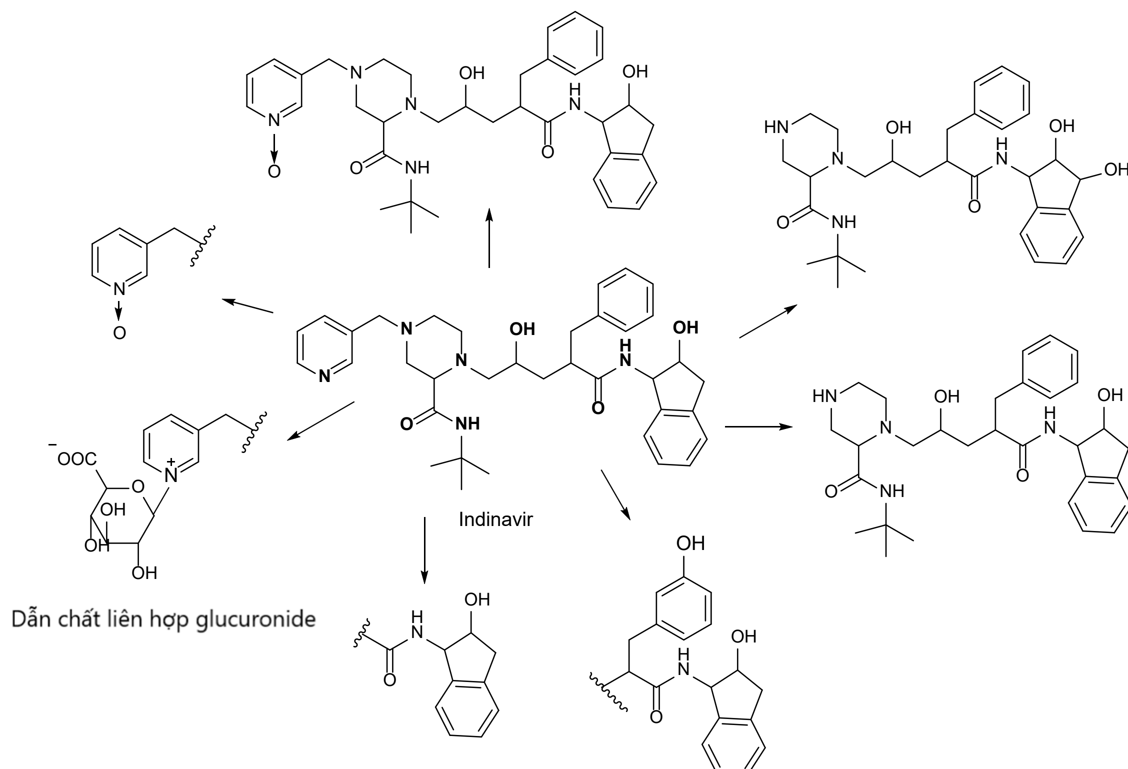
Cấu trúc indinavir được thiết kế bao gồm các yếu tố để cải thiện khả năng hấp thu và sinh khả dụng bằng cách bổ sung amine base vào khung của hợp chất chứa gốc hydroxyethylene mô phỏng trạng thái chuyển tiếp [100].

Nồng độ ức chế 95% chống lại các biến thể HIV thích nghi trong phòng thí nghiệm, các chủng phân lập chính trên lâm sàng và virus kháng thuốc trên lâm sàng với các chất tương đồng indinavir, là 25 nM đến 100 nM trong các nghiên cứu kết hợp thuốc với ZDV và ddI. Tuy nhiên, ở một số bệnh nhân, HIV đã cho thấy sự kháng thuốc với indinavir. Sự đề kháng này là do đột biến của virus có liên quan đến sự thay thế amino acid trong protease của virus. Các đột biến ở các vị trí 46, 82 và 84 dường như có tương quan chặt chẽ nhất đến sự giảm nhạy cảm với indinavir. Đề kháng chéo với indinavir được quan sát thấy với các PI khác nhưng không xảy ra với thuốc ức chế RT.

Indinavir được hấp thu nhanh chóng ở bệnh nhân lúc đói và nồng độ đỉnh trong huyết tương được quan sát thấy trong khoảng 1 giờ. Với liều 800 mg mỗi 8 giờ, nồng độ đỉnh trong huyết tương là khoảng 300 nM. Thuốc liên kết khoảng 60% với protein huyết

tương. Indinavir được chuyển hóa qua quá trình oxy hóa và liên hợp glucuronide. Ít nhất bảy chất chuyển hóa đã được xác định, với chất liên hợp là chất chuyển hóa chính. Các chất chuyển hóa này được tìm thấy trong phân và nước tiểu, với khoảng 20% lượng thuốc được bài tiết qua nước tiểu. Thời gian bán thải của indinavir là khoảng 1.8 giờ.

Do sự chuyển hóa của indinavir, một số tương tác thuốc có thể xảy ra. Indinavir tương tác với rifabutin hoặc ketoconazole, dẫn đến tăng hoặc giảm nồng độ indinavir tương ứng trong huyết tương. Sử dụng phối hợp indinavir với các thuốc kháng virus tương đồng nucleoside, cimetidine, quinidine, trimethoprim/sulfamethoxazole, fluconazole, hoặc isoniazid làm tăng hoạt tính của indinavir. Indinavir được chống chỉ định ở những bệnh nhân đang dùng triazolam hoặc midazolam, vì sự ức chế chuyển hóa của những thuốc này có thể dẫn đến an thần kéo dài, sỏi thận, tăng bilirubin không triệu chứng và các vấn đề về dạ dày - ruột (chán ăn, táo bón, khó tiêu và viêm dạ dày). Hoạt tính của indinavir được tăng lên khi kết hợp với các chất ức chế RT.



Hình 7.79. Chất chuyển hóa tạo thành từ indinavir [1]

Nelfinavir mesylate

Nelfinavir mesylate dạng bột vô định hình trắng đến trắng nhạt. Tan trong nước 4.5 mg/L; rất dễ tan trong methanol, ethanol và acetonitril. Thực tế không hòa tan trong dầu đậu nành, dầu khoáng.

Nelfinavir mesylate là thuốc mô phỏng peptide có hiệu quả trên các chủng virus HIV-1 và HIV-2 tự nhiên và kháng ZDV, với nồng độ liều hiệu quả trung bình trong khoảng từ 9 nM đến 60 nM (liều hiệu quả 95%, 0.04 mg/mL). Sau khi tiêm tĩnh mạch, thời gian bán thải của nelfinavir là khoảng 1 giờ. Kết hợp với d4T, nelfinavir làm giảm tải lượng virus HIV khoảng 98% sau bốn tuần. Nelfinavir mesylate được dung nạp tốt khi được sử dụng với thuốc chống nấm nhóm azole (ketoconazole, fluconazole hoặc itraconazole) hoặc kháng sinh macrolide (erythromycin, clarithromycin hoặc azithromycin). Nelfinavir gây tiêu chảy và các tác dụng phụ khác thường gặp đối với các thuốc non-nucleoside. Sau khi uống, nồng độ đỉnh nelfinavir trong huyết tương dao động từ 0.34 mg/mL (10 mg/kg ở chó) đến 1.7 mg/mL (50 mg/kg ở chuột). Ở chó, nelfinavir được hấp thu chậm và sinh khả dụng là 47%. Thuốc dường như được chuyển hóa ở gan, và đường bài tiết chủ yếu là qua phân.

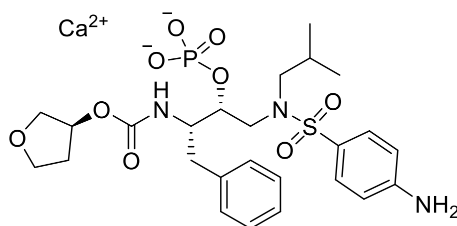
Amprenavir

Là một dẫn chất của hydroxyethylamine sulfonamide, amprenavir có cấu trúc độc đáo so với các tác nhân trước đó, nhưng tác dụng dược lý dường như không khác biệt đáng kể so với các thuốc trên thị trường. Các nghiên cứu ban đầu cho thấy có thể tồn tại một sự đề kháng amprenavir khác và thuốc này có thể có hiệu quả chống lại một số chủng HIV kháng thuốc. Các tác dụng phụ dường như phổ biến hơn so với thuốc PI khác, bao gồm buồn nôn, nôn, dị cảm, trầm cảm và phát ban. Do amprenavir là một sulfonamide, có một số lo ngại về tình trạng mẫn cảm chéo với sulfonamide kháng khuẩn. Điều này chưa được báo cáo, nhưng cần thận trọng với những người dị ứng với trimethoprim/sulfamethoxazole.

Amprenavir được hấp thu nhanh chóng sau khi uống và có thể dùng cùng hoặc không cùng thức ăn. Các bữa ăn nhiều chất béo làm giảm sự hấp thu của thuốc và do đó nên tránh. Sản phẩm có sẵn ở dạng viên nang và dạng lỏng. Chế phẩm dạng lỏng được khuyến nghị cho trẻ em từ 4 đến 12 tuổi hoặc cho bệnh nhân từ 13 đến 16 tuổi có cân nặng dưới 50 kg, bởi vì chế phẩm chứa tá dược propylene glycol, không nên dùng cho trẻ em dưới 4 tuổi và một số đối tượng khác không thể chuyển hóa tá dược này.

Sự đề kháng trong vùng mã hóa protease dường như hơi khác so với các PI trước đó và theo các con đường khác nhau liên quan đến các đột biến chính ở các vị trí I50V, I54L/M, V32I + I47V và ít phổ biến hơn là I84V [102].

Fosamprenavir calcium là tiền dược, hòa tan tốt trong nước. Dùng đường uống khi vào cơ thể sẽ được phosphatase thủy phân hoàn toàn trong nội mô ruột, phóng thích amprenavir. Dạng tiền dược giúp cải thiện nồng độ thuốc trong huyết tương. Thuốc được dùng kết hợp với chất ức chế RT cho thấy hiệu quả tối ưu trên bệnh nhân AIDS.



Hình 7.80. Fosamprenavir calcium

Lopinavir

Bột trắng, điểm chảy 124-127 °C, thực tế không tan trong nước, dễ tan trong methanol và ethanol.

Nhiều hạn chế của PI thế hệ đầu tiên (sinh khả dụng đường uống hạn chế, thời gian bán hủy trong huyết tương ngắn, gắn kết cao với protein huyết tương, rào cản di truyền thấp đối với sự đề kháng) dẫn đến việc phát triển lopinavir. Lopinavir là thuốc đầu tiên và cho đến nay chỉ được dùng phối hợp với ritonavir liều thấp. Kết hợp lopinavir/ritonavir được chỉ định ở những bệnh nhân không đáp ứng với các phác đồ điều trị HIV khác. Sản phẩm có dạng viên nang gelatin mềm chứa 133.3 mg lopinavir và 33.3 mg ritonavir cũng như trong các dung dịch uống có chứa 80 mg/mL lopinavir và 20 mg/mL ritonavir. Một lượng nhỏ ritonavir được cho là không có tác dụng kháng retrovirus, tuy nhiên ritonavir làm tăng nồng độ trong huyết tương của lopinavir bằng cách ức chế sự chuyển hóa của lopinavir bởi CYP3A4 (ritonavir hoạt động như một chất tăng cường). Kết hợp này được phê duyệt sử dụng cho người lớn cũng như bệnh nhân trong độ tuổi từ 6 tháng đến 12 tuổi. Đây là PI đầu tiên được chỉ định cho trẻ rất nhỏ.

Atazanavir sulfate

Atazanavir sulfate dạng bột kết tinh màu trắng đến vàng nhạt, tan nhẹ trong nước 4 - 5 mg/mL, pH của dung dịch bão hòa là 1.9. Được thiết kế để đơn giản hóa các phác đồ sử dụng thuốc, atazanavir được phê duyệt vào năm 2003 và trở thành PI đầu tiên sử dụng mỗi ngày một lần.

Atazanavir là thuốc kháng retrovirus được phê duyệt để sử dụng kết hợp với các thuốc kháng retrovirus khác trong điều trị HIV. Atazanavir là chất mô phỏng peptide, ức chế trạng thái chuyển tiếp làm giảm sự nhân lên của virus và do đó, giảm độc lực của HIV-1. Tương tự như saquinavir, ritonavir, indinavir, nelfinavir, amprenavir và lopinavir, thuốc được sử dụng kết hợp với các chất ức chế RT để tạo ra hiệu quả tốt ở bệnh nhân AIDS.

Atazanavir được dùng bằng đường uống một lần mỗi ngày. Thuốc dường như có tác động tối thiểu đến các thông số lipid nhưng lại làm tăng bilirubin toàn phần. Thuốc được hấp thu tốt khi dùng đường uống trong bữa ăn (sinh khả dụng ~ 68%), gắn kết cao

với protein huyết tương (86%) và được chuyển hóa bởi isoenzyme CYP3A. Atazanavir là một chất ức chế vừa phải CYP3A, và các tương tác thuốc - thuốc tiềm ẩn có thể xảy ra với các chất ức chế và cảm ứng CYP3A.

Tipranavir

Bột trắng, điểm chảy 86 - 89 °C. Độ quay cực riêng (trong ethanol): +20° ở 25 °C.

Tipranavir là chất đầu tiên của các PI không tương đồng peptide, thay vì chứa cấu trúc hydroxyethylene, tipranavir chứa vòng dihydropyrone làm khung trung tâm. Các nghiên cứu *in vitro* sâu hơn chứng minh khả năng ức chế mạnh của tipranavir đối với các chủng HIV phân lập lâm sàng đề kháng nhiều PI là do tính linh hoạt phân tử, cho phép tipranavir gắn vừa vặn vào vị trí xúc tác của protease đề kháng với các PI khác [100].

Tipranavir được FDA phê duyệt vào năm 2005 để điều trị bệnh nhân nhiễm HIV kháng đa thuốc nhóm PI. Mặc dù có tác dụng mạnh, tipranavir cũng thể hiện nhiều tác dụng phụ hơn các PI khác như chảy máu nội sọ, đái tháo đường, viêm gan.

Tipranavir là chất cảm ứng mạnh sự chuyển hóa của chính nó thông qua cảm ứng biểu hiện cytochrome P450, dẫn đến nhu cầu tăng cường ritonavir liều gấp đôi. Liều 500 mg hai lần mỗi ngày cần tăng cường với 200 mg ritonavir, gấp đôi liều dùng với các PI khác [1].

Danuravir

Danuravir là chất rắn màu trắng, vô định hình, điểm chảy 74 - 76 °C, khó tan trong nước (8.7 mg/L ở 25 °C). Được tổng hợp bằng cách thay thế gốc urethane tetrahydrofuranyl (THF) của amprenavir bằng bis-THF (Koh và cộng sự 2003). Liên kết hydro bổ sung giữa vòng bis-THF và khung chính của PI dẫn đến hoạt tính chống lại một loạt các chủng phân lập lâm sàng với IC_{50} trong phạm vi nano, bao gồm cả HIV-1 đa kháng thuốc [100].

Danuravir được xem là chất ức chế protease thế hệ thứ 2, dùng điều trị bệnh nhân người lớn và trẻ em. Thuốc được thiết kế để gắn chặt và hiệu quả trên protease của HIV và do đó vượt qua được những vấn đề đi kèm với PI thế hệ 1 bao gồm độc tính, liều cao và nhạy cảm với sự đề kháng. Như các chất ức chế protease khác, danuravir được chuyển hóa bởi cytochrome P450 và do đó thuốc được dùng liều 800 mg 1 lần/ngày, kèm 100 mg ritonavir.

Cobicistat (pharmacoenhancer)

Cobicistat là chất ức chế mạnh và chọn lọc các enzyme cytochrome P450 3A (CYP3A) ở người. Ngược lại với ritonavir, cobicistat không có hoạt tính kháng HIV và do đó thích hợp hơn để sử dụng trong việc tăng cường tác dụng của các loại thuốc kháng HIV mà không gây rủi ro chọn lọc các biến thể HIV có tiềm năng kháng thuốc. Cobicistat

cho thấy giảm nguy cơ tương tác thuốc và có thể cải thiện khả năng dung nạp so với ritonavir [103].

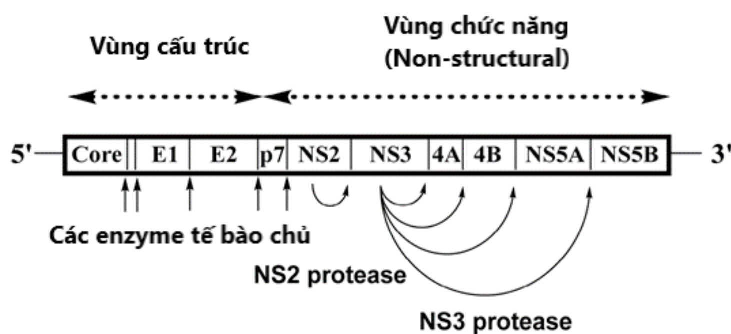
6.1.5. Tương tác thuốc

Các chất ức chế protease HIV có tiềm năng lớn gây tương tác thuốc do là cơ chất và là chất ức chế enzyme CYP3A4. Do đó, sử dụng đồng thời chất ức chế protease với những thuốc được chuyển hóa bởi CYP3A4 có thể bị chống chỉ định và trong một số trường hợp kết quả của sự tương tác này có thể đe dọa đến tính mạng. Chất ức chế CYP450 mạnh nhất là ritonavir (được sử dụng để có lợi khi kết hợp với lopinavir và các chất ức chế protease HIV khác), tiếp theo là indinavir, nelfinavir, và amprenavir (chất ức chế trung bình) và saquinavir (chất ức chế yếu nhất). Các tương tác thuốc được báo cáo với bedipril, dihydroergotamine và một số benzodiazepine. Sự gia tăng đáng kể hoạt tính của amiodarone, lidocaine (dùng toàn thân), quinidine, thuốc chống trầm cảm ba vòng và wafarine có thể xảy ra. Các tương tác khác được báo cáo với rifampin, rifabutin, phenobarbital, phenytoin, dexamethasone hoặc carbamazepine. Do các chất ức chế protease được chuyển hóa bởi CYP450, tác động của thuốc có thể bị thay đổi bởi những tác nhân khác gây cảm ứng hay ức chế enzyme này. Trường hợp rifabutin, chất này ức chế CYP3A4 trong ruột, sinh khả dụng tương đối của chất ức chế protease được gia tăng và cần giảm liều của chất ức chế protease.

6.2. Thuốc ức chế protease virus HCV (HCV NS3/4A protease inhibitors)

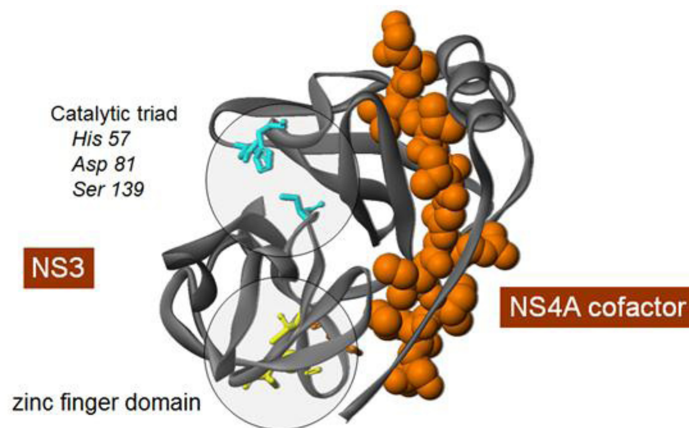
6.2.1. Protease HCV

Protease NS3/4A chịu trách nhiệm cắt chọn lọc polyprotein thành các protein HCV riêng lẻ (NS4A, NS4B, NS5A và NS5B).



Hình 7.81. Sơ đồ mô tả tổ chức của gen mã hóa polyprotein HCV. Các enzyme của tế bào chủ, protease NS2 và protease NS3 phân cắt polyprotein thành các protein cấu trúc và protein chức năng [104]

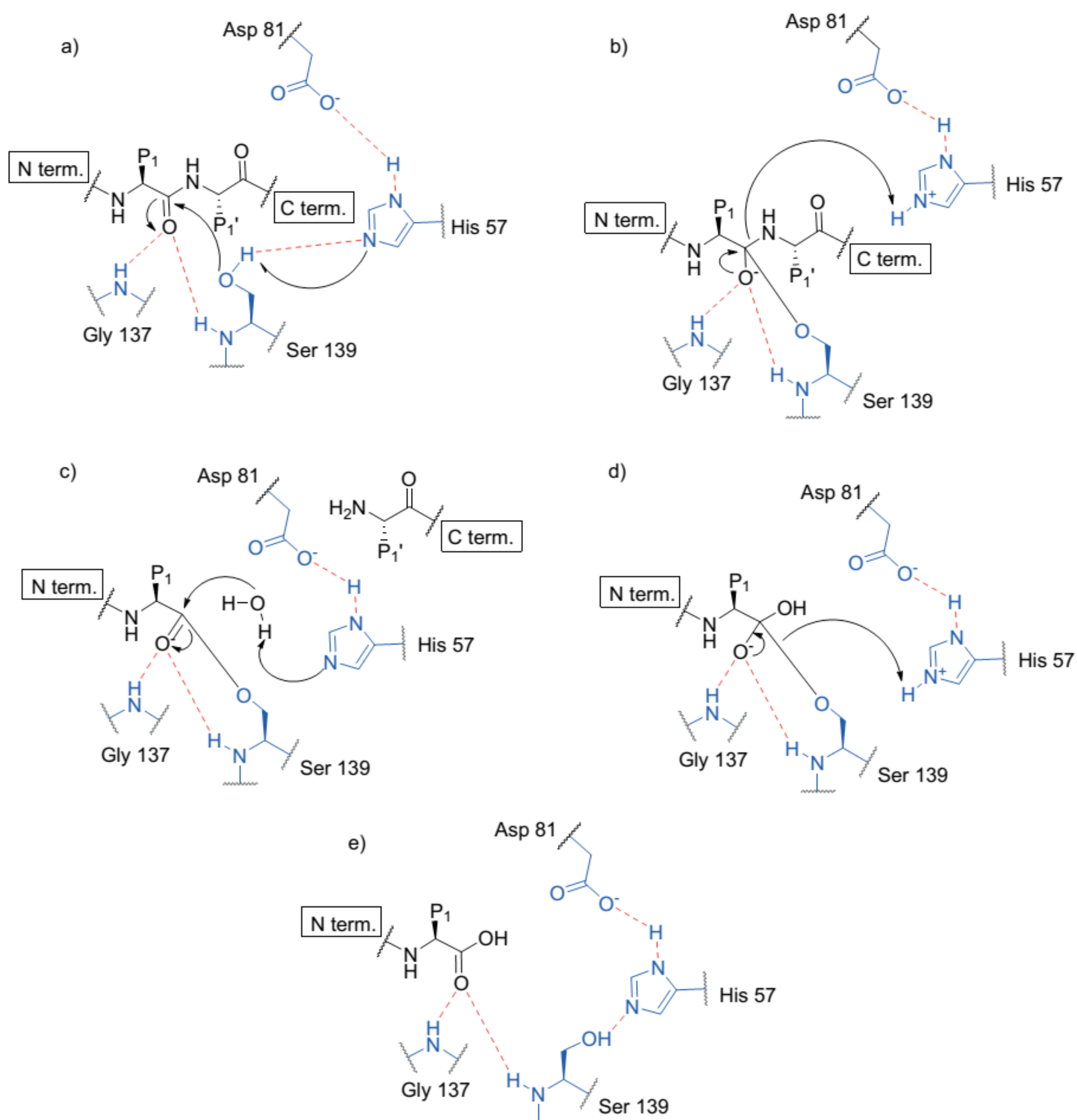
NS3 của HCV bao gồm một protease serine ở đầu N và một RNA helicase ở đầu C. Peptide NS4A là một co-factor quan trọng đối với sự trưởng thành (maturation) của polyprotein. NS4A giữ miền protease NS3 nằm rất gần với màng và đóng vai trò như một kết nối phân tử, neo giữ phức hợp sao chép của HCV lại với nhau tại màng tế bào. Hoạt động của protease NS3 chịu trách nhiệm cho bốn trong số mười phân cắt xảy ra trong polyprotein tiền chất, sự tham gia của NS4A giúp tăng đáng kể mức độ hoạt tính xúc tác, do đó tên của enzyme là NS3/4A. Phức hợp NS3/4A phân cắt polyprotein của HCV tại các điểm nối giữa các protein chức năng (non-structural proteins). Các protein này sau đó giữ vai trò quan trọng cho quá trình sao chép ARN virus. Tất cả các chất ức chế protease NS3 liên kết với vị trí xúc tác của enzyme, bao gồm bộ ba xúc tác: His57, Asp81, Ser139.



Hình 7.82. NS3 và co-factor NS4A

Các nghiên cứu cho thấy enzyme này nhận diện đoạn gồm mười amino acid của cơ chất, từ P_6 đến P_4' [118], với P1 Cys là yếu tố quyết định chính của việc nhận ra vị trí phân cắt [119].

Cơ chế xúc tác: Protease serine - HCV NS3 - xúc tác theo cơ chế được đề nghị trong Hình 7.83. Tại vị trí xúc tác, Ser139 và Gly137 tạo dạng trung gian oxyanion. Quá trình xúc tác cắt liên kết peptide trải qua bốn giai đoạn: (a) Tại vùng xúc tác, serine hoạt hóa tấn công vào gốc carbonyl P1 của cơ chất trong vị trí xúc tác. (b) Sự chuyển proton từ His57 phá vỡ cấu trúc trung gian tứ diện, tạo ra phức acyl cộng hóa trị và giải phóng peptide đầu cuối C. (c) Sự tấn công của phân tử nước vào phức này tạo ra chất trung gian tứ diện thứ hai. (d) Sự proton hóa Ser139 bởi His57 tạo thành sản phẩm cắt đầu cuối N (e).



Hình 7.83. Cơ chế chung cho sự phân cắt cơ chất bởi protease serine [105]

6.2.2. Chất ức chế protease NS3 HCV

Protease NS3 của HCV có cơ chế nhận diện cơ chất khác thường. Chiều dài tối thiểu của cơ chất peptide gồm mười đơn vị amino acid kéo dài từ P6 đến P4'. Enzyme này nhận biết đặc hiệu các cơ chất peptide thông qua một loạt các tương tác yếu phân bố dọc theo bề mặt nhận biết nông, mở rộng. Tuy nhiên, việc phát triển các peptide lớn mô phỏng cơ chất của enzyme thành thuốc khó có thể thực hiện, do đó thúc đẩy việc tìm kiếm các tương tác mới có thể cho phép gắn kết các phân tử nhỏ vào vị trí xúc tác của enzyme. Một chiến lược khả thi để tìm ra chất ức chế protease NS3 với khối lượng phân tử nhỏ

là tận dụng lợi thế từ khả năng phản ứng của serine tại vị trí xúc tác. Một số chất ức chế protease HCV có cấu trúc mô phỏng peptide được phê duyệt bao gồm các hợp chất mạch thẳng (asunaprevir), các hợp chất mạch vòng P1-P3 (simeprevir, paritaprevir) và mạch vòng P2-P4 (grazoprevir, glecaprevir, voxilaprevir). Đối với những chất ức chế này, P1, P2, P3 và P4 tương ứng với chuỗi bên amino acid của cơ chất, tương tác với các túi gắn kết cơ chất S1, S2, S3 và S4 tương ứng của protease [106].

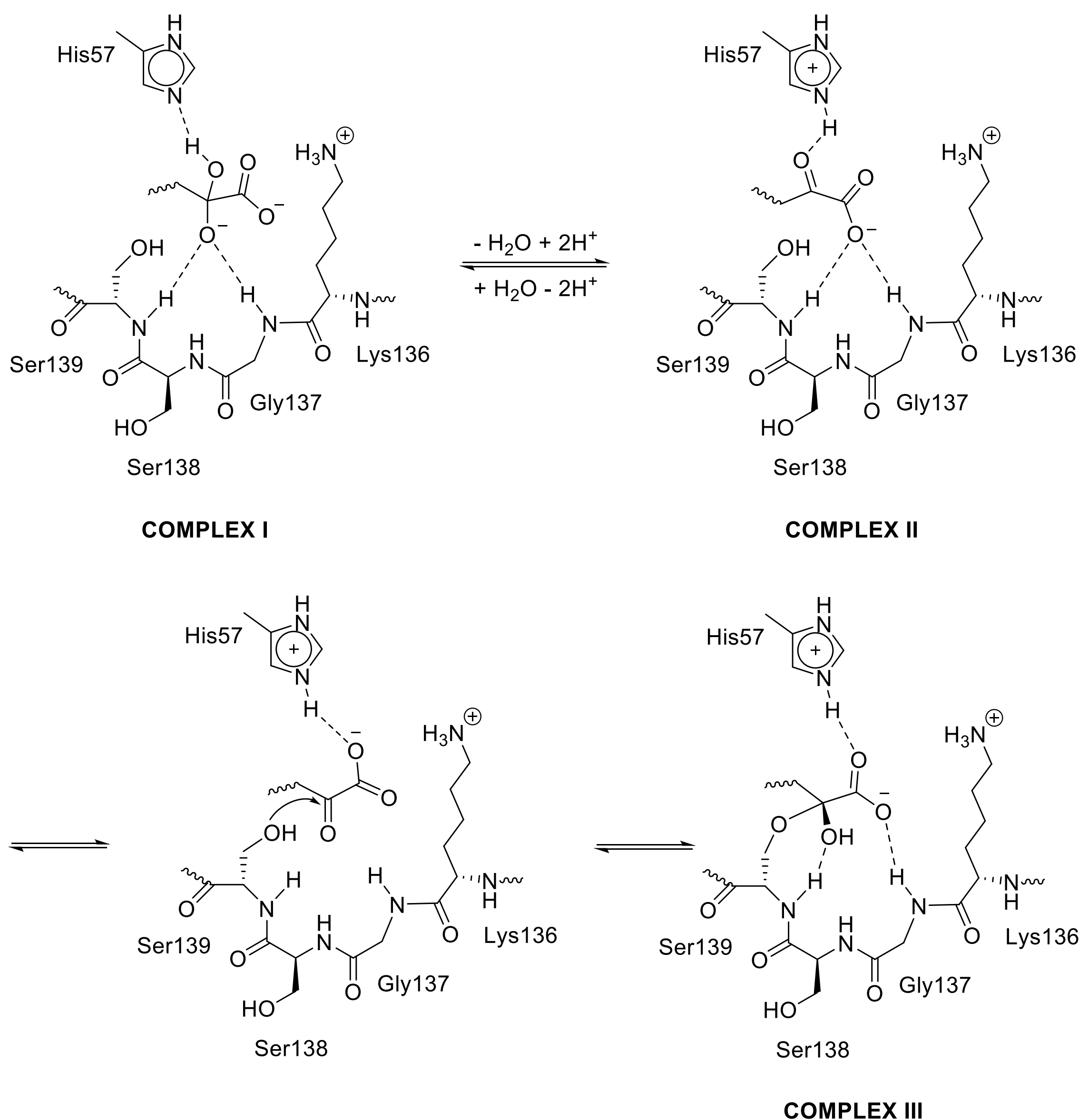
HCV có sáu genotype (GT1 - GT6) và các hợp chất mạch vòng P2-P4 (được xem là các chất ức chế protease NS3/4A thế hệ mới nhất) có tính đặc hiệu rộng trên nhiều genotype, trong đó GT1 là kiểu gen được nghiên cứu và nhắm đến nhiều nhất. Trong số 18 đột biến phổ biến trên protease của HCV được biết đến, các đột biến nằm trong túi S2 và S4 bao gồm Q80K/R, R155K/Q, A156T và D168A/V/T/H, có thể dẫn đến đề kháng. Đột biến phổ biến nhất gây đề kháng với tất cả các thuốc ức chế NS3/4A hiện tại là D168A và R155K [106].

- Cấu trúc và cơ chế tác dụng

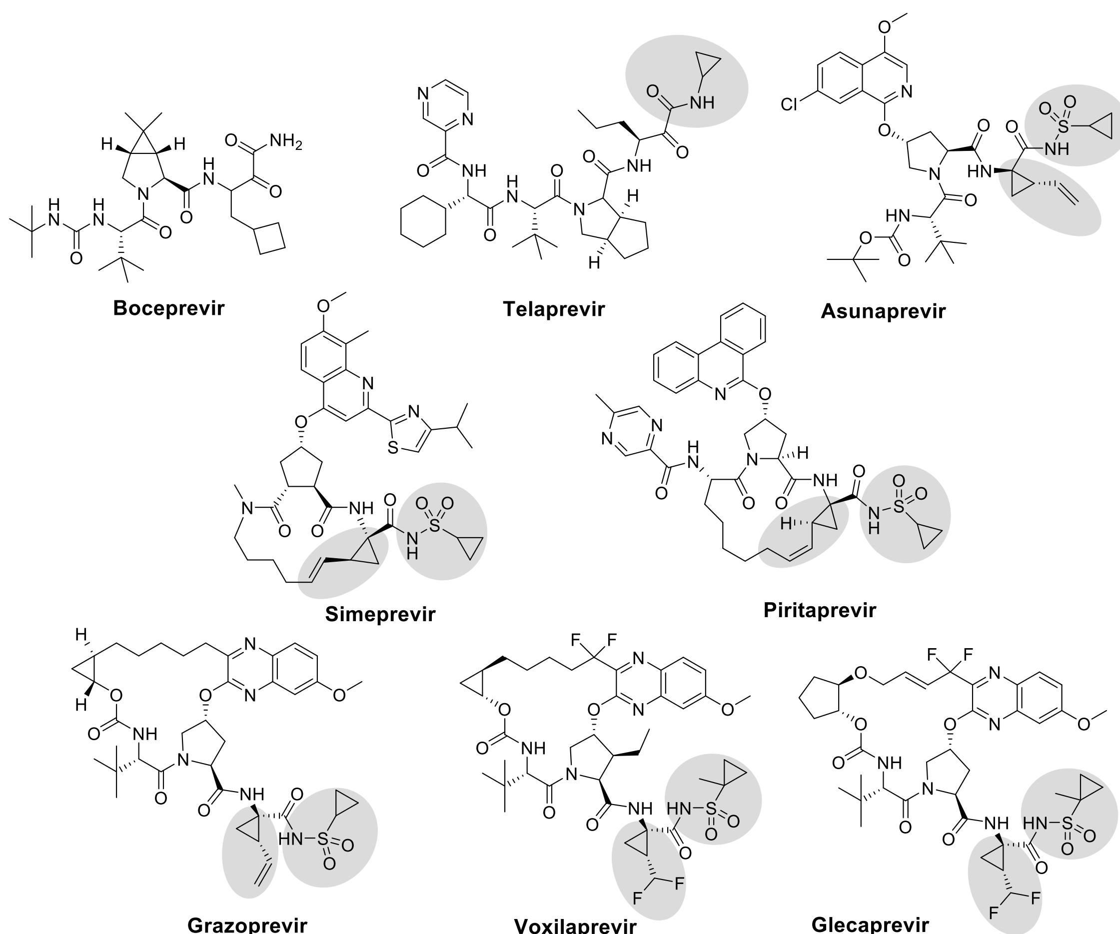
Cơ chế tác động chung của các chất ức chế NS3 dựa trên sự hiện diện của một nhóm ái điện tử (electrophilic) có khả năng tham gia vào liên kết cộng hóa trị tạm thời với nhóm γ-OH ái nhân của Ser139 tại bộ ba xúc tác, tạo ra chất tương tự trạng thái chuyển tiếp của trung gian tứ diện hình thành trong phản ứng phân cắt liên kết amide. Nhưng không giống như cơ chất, chất trung gian tứ diện này tồn tại trong thời gian đáng kể và không tiếp tục quá trình phản ứng mà trở lại thành cấu trúc ban đầu và giải phóng enzyme tự do [106].

Các dẫn xuất α-ketoamide ái điện tử tại đầu C có hoạt tính mạnh và là các thuốc ức chế NS3 đầu tiên được phê duyệt (boceprevir, telaprevir). Các hợp chất này liên kết với vị trí xúc tác của enzyme thông qua cơ chế gồm hai bước: ban đầu hình thành phức hợp chất ức chế - enzyme không cộng hóa trị sau đó sắp xếp lại thành phức hợp hemiketal với liên kết cộng hóa trị ổn định hơn. Phức hợp cộng hóa trị sau đó bị phân ly rất chậm (Hình 7.84).

Việc thay nhóm α-ketoamide bằng nhóm acyl sulfonamide ở P1 được cho là mang lại tính chọn lọc cao đối với protease NS3 như trong trường hợp của asunaprevir, simeprevir, paritaprevir, grazoprevir, voxilaprevir, glecaprevir [107]. Ngoài ra, có thể kể đến những cải tiến quan trọng về cấu trúc nhằm đạt hiệu quả tối ưu như đưa vào các nhóm thế thơm trên proline P2, kết hợp với tối ưu hóa chuỗi bên P1 như nhóm vinyl cyclopropane (hoặc difluoromethyl cyclopropane) ở P1 và cyclopropyl amino tại α-ketoamide hay *N*-cyclopropylsulfonyl tại gốc sulfonamide.



Hình 7.84. Cơ chế đề xuất của dẫn xuất α-ketoacid trong ức chế protease NS3. Mô hình tương tác giữa chất ức chế và vị trí hoạt động của protease dựa trên dữ liệu thực nghiệm và cấu trúc tinh thể của protein với *p*-amidinophenylpyruvate (p-APPA) và trypsin hoặc thrombin [106]



Hình 7.85. Cấu trúc các chất ức chế HCV-NS3

Việc đóng vòng các đơn vị P2-P4 (glecaprevir, grazoprevir, voxilaprevir) và P1-P3 (simeprevir và paritaprevir) cho phép tổng hợp và phát triển các chất ức chế macrocyclic mới có hiệu quả trong cả thử nghiệm enzyme và thử nghiệm tế bào. Các chất ức chế này mô phỏng cấu dạng peptide mở rộng và gắn với protease với cấu dạng thích hợp, giúp gia tăng ái lực gắn kết. Các chất ức chế có cấu trúc peptide vòng ít nhạy cảm hơn đối với sự thủy giải bởi protease, đồng thời thường có sự hấp thu qua đường uống được cải thiện rõ rệt và dược động học có thể so sánh với các chất tương đồng mạch hở tương ứng.

- Các chất ức chế protease HCV sử dụng trong lâm sàng

Telaprevir

Bột trắng đến trắng nhạt, độ tan trong nước 0.0047 mg/mL.

Được sử dụng kết hợp với ribavirin, peginterferon alfa-2a và peginterferon alfa-2b để điều trị nhiễm HCV genotype 1 mãn tính ở người lớn. Dạng viên nén 375 mg.

Telaprevir đạt nồng độ đỉnh trong huyết tương 4 - 5 giờ sau khi dùng. Hấp thu thuốc gia tăng khi dùng chung với bữa ăn. Liên kết 59 - 76% với protein huyết tương người sau khi dùng một liều duy nhất. Chuyển hóa nhiều qua quá trình thủy phân, oxy hóa và khử. Chất chuyển hóa chính của telaprevir là pyrazinoic acid từ quá trình khử ở liên kết α-ketoamide. Đồng phân quang học *R*-diastereomer của telaprevir có hoạt tính kém hơn 30 lần so với hợp chất gốc. Enzyme chính tham gia vào quá trình chuyển hóa của telaprevir là CYP3A4. Một số quá trình chuyển hóa được thực hiện bởi các reductase.

Telaprevir được thải trừ chủ yếu qua phân (82%) với một lượng nhỏ hơn được thải trừ qua đường thở (9%) và rất ít qua nước tiểu (1%). Thải trừ trong phân nguyên vẹn (31.9%) và dưới dạng đồng phân *R*-diastereomer (18.8%.) Thời gian bán thải là 4.0 - 4.7 giờ sau khi dùng một liều duy nhất.

Độc tính: Các phản ứng da nghiêm trọng bao gồm hội chứng Stevens Johnson, tăng bạch cầu ái toan và các triệu chứng toàn thân, hoại tử biểu bì nhiễm độc được báo cáo ở những bệnh nhân được điều trị kết hợp telaprevir.

Tháng 8 năm 2014, Vertex Pharmaceuticals thông báo ngừng sản xuất telaprevir vì nhu cầu về thuốc giảm do sự cạnh tranh từ các phương pháp điều trị viêm gan C mới hơn.

Boceprevir

Bột vô định hình từ trắng đến trắng nhạt; tan nhẹ trong nước, dễ tan trong methanol, ethanol và isopropanol.

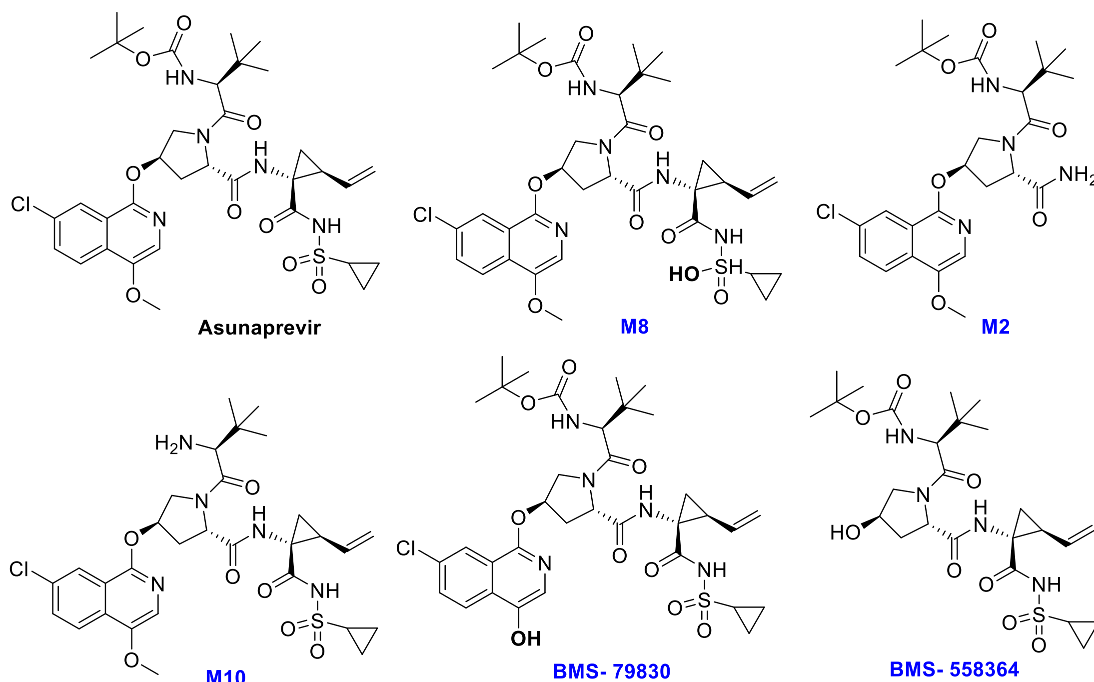
Boceprevir đạt nồng độ đỉnh trong huyết tương 2 giờ sau khi dùng. Khi dùng chung với thực phẩm, hấp thu tăng lên đến 65%. Trong viên nang, boceprevir bao gồm hai đồng phân dia theo tỷ lệ 1:1. Trong huyết tương, tỷ lệ này thay đổi thành 2:1 có lợi cho đồng phân có hoạt tính. Khoảng 75% gắn với protein huyết tương sau một liều duy nhất. Bocepravir được chuyển hóa chủ yếu qua con đường trung gian aldo-ketoreductase tạo ra một hỗn hợp chất chuyển hóa diastereomeric cao hơn 4 lần so với thuốc ban đầu; cũng trải qua quá trình chuyển hóa oxy hóa bởi CYP3A4/5, mặc dù ở mức độ thấp hơn.

Boceprevir được thải trừ chủ yếu qua phân (79%) với một lượng nhỏ thải trừ qua nước tiểu (9%). Được bài tiết dưới dạng không đổi trong phân (8%) và nước tiểu (3%). Boceprevir có thời gian bán thải trung bình là 3.4 giờ.

Tháng 1 năm 2015, boceprevir được rút khỏi khỏi thị trường do các chất ức chế HCV mới hơn có tính ưu việt vượt trội.

Asunaprevir

Chất rắn kết tinh, điểm chảy 145 - 155 ºC. Không tan trong nước, tan trong ethanol 100 mg/mL, tan trong DMSO 100 mg/mL. λ_{max} 254 nm, 305 nm, 333 nm.



Hình 7.86. Asunaprevir và các chất chuyển hóa

Asunaprevir được chỉ định kết hợp với các thuốc khác để điều trị viêm gan C mãn tính ở bệnh nhân người lớn có genotype 1 hoặc 4 và xơ gan còn bù.

Hấp thu nhanh chóng trong vòng 30 phút sau khi sử dụng. Các nghiên cứu dược động học lâm sàng cho thấy T_{max} là 2 - 4 giờ. Sự hấp thu được tăng lên nếu thuốc được sử dụng kết hợp với chế độ ăn nhiều chất béo. Gắn kết với protein rất cao, có thể đạt hơn 99% liều dùng độc lập.

Asunaprevir được chuyển hóa qua gan. Sự chuyển hóa chủ yếu bởi các phản ứng oxy hóa qua trung gian CYP3A. Các chất chuyển hóa của asunaprevir được hình thành qua quá trình mono và bis oxy hóa, *N*-dealkyl hóa, mất vòng isoquinoline và *O*-demethyl hóa. Tất cả các phản ứng chuyển hóa tạo thành khoảng 15 chất chuyển hóa và chịu trách nhiệm bởi CYP3A4 và CYP3A5 với một phần nhỏ từ CYP2A6, CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19 và CYP2D6.

Thải trừ chủ yếu qua phân, 84% liều sử dụng được bài tiết qua phân chủ yếu dưới dạng chuyển hóa và dưới 1% liều tìm thấy trong nước tiểu dưới dạng chuyển hóa. Tỷ lệ

asunaprevir nguyên vẹn tìm thấy trong phân chỉ chiếm 7.5% liều dùng. Thời gian bán hủy trung bình là 15 - 20 giờ.

Simeprevir

Dạng bột trắng hoặc gần như trắng, không tan trong nước, tan rất ít trong ethanol, tan nhẹ trong acetone, tan trong CH_2Cl_2, dễ tan trong một vài dung môi hữu cơ.

Simeprevir được chỉ định để điều trị cho người lớn bị nhiễm HCV mãn tính, thường kết hợp với sofosbuvir ở bệnh nhân HCV genotype-1 không bị xơ gan hoặc xơ gan còn bù và kết hợp với peginterferon alfa (Peg-IFN-alfa) và ribavirin ở những bệnh nhân có HCV genotype 1 hoặc 4 không bị xơ gan hoặc xơ gan còn bù.

Sinh khả dụng tuyệt đối trung bình của simeprevir sau khi uống một liều 150 mg viên nang simeprevir sau bữa ăn là 62%. Nồng độ tối đa trong huyết tương (C_{max}) thường đạt được từ 4 đến 6 giờ sau khi uống. Gắn kết nhiều (99.9%) với protein huyết tương, chủ yếu với albumin và ở mức độ thấp hơn với alpha 1-acid glycoprotein. Nồng độ trong huyết tương tăng do tương tác thuốc được dự đoán khi dùng đồng thời các chất ức chế vừa hoặc mạnh CYP3A, trong khi dự đoán tác dụng ngược lại khi dùng đồng thời các chất cảm ứng vừa hoặc mạnh CYP3A.

Simeprevir trải qua quá trình chuyển hóa ở gan. Con đường chuyển hóa chính liên quan đến quá trình oxy hóa qua trung gian CYP3A. Thải trừ chủ yếu qua phân (khoảng 91%), dạng nguyên vẹn chiếm 31% tổng liều dùng. Thời gian bán thải của simeprevir sau khi dùng liều 200 mg khoảng 41 giờ ở bệnh nhân dương tính với HCV và 10 - 13 giờ ở người không nhiễm HCV.

Tác dụng phụ: Trong liệu pháp kết hợp với sofosbuvir, các tác dụng phụ thường gặp nhất là mệt mỏi, nhức đầu và buồn nôn. Trong trường hợp điều trị bộ ba với PEG-Interferon Alfa-2A và ribavirin, các tác dụng ngoại ý thường gặp nhất bao gồm phát ban (bao gồm cả nhạy cảm với ánh sáng), ngứa và buồn nôn. Có thể quan sát thấy sự gia tăng bilirubin huyết thanh do simeprevir ức chế OATP1B1 và MRP2 vận chuyển bilirubin.

Paritaprevir

Năm 2014, paritaprevir được phê duyệt để sử dụng kết hợp với ombitasvir (chất ức chế NS5A) và dasabuvir (chất ức chế polymerase NS5B không tương đồng nucleoside) có hoặc không có ribavirin (như một chất tăng cường).

T_{max} khoảng 4 đến 5 giờ với nồng độ tối đa (C_{max}) là 194 ng/mL; 97 - 98.6% liên kết với protein huyết tương. Paritaprevir được chuyển hóa chủ yếu bởi CYP3A4 và ở mức độ thấp hơn bởi CYP3A5.

Sau khi dùng một liều duy nhất ^{14}C-paritaprevir đồng thời với 100 mg ritonavir, khoảng 88% hoạt độ phóng xạ được tìm thấy trong phân, với độ phóng xạ hạn chế (8.8%)

trong nước tiểu; paritaprevir dạng không đổi chiếm 1.1% trong phân và 0.05% trong nước tiểu. $T_{1/2}$ = 5.5 giờ.

Grazoprevir

Grazoprevir kết hợp với chất ức chế NS5A elbasvir được FDA phê duyệt vào năm 2016 để điều trị nhiễm HCV bệnh nhân có genotype 1 và 4.

Grazoprevir đạt nồng độ đỉnh trong huyết tương 0.5-3 giờ sau khi dùng. Sinh khả dụng tuyệt đối là 27%. Khi dùng chung với thức ăn, nồng độ đỉnh của grazoprevir tăng lên 2.8 lần. Gắn hơn 98.8% với protein huyết tương. Thuốc liên kết với cả albumin huyết thanh và α1-acid glycoprotein.

Thải trừ chủ yếu qua phân (90%) và rất ít qua nước tiểu (< 1%).

Glecaprevir

Glecaprevir là chất ức chế protease NS3/4A 'pan-genotypic' thế hệ mới được kết hợp liều cố định với pibrentasvir, chất ức chế NS5A. Kết hợp này được FDA phê duyệt vào tháng 8 năm 2017. Được chỉ định để điều trị bệnh nhân người lớn nhiễm HCV mãn tính genotype 1, 2, 3, 4, 5 hoặc 6 mà không bị xơ gan hoặc xơ gan còn bù.

Ở người khỏe mạnh, thời gian cần thiết để đạt nồng độ đỉnh trong huyết tương (T_{max}) là khoảng 5 giờ. Nồng độ đỉnh trung bình trong huyết tương (C_{max}) là 597 ng/mL ở đối tượng nhiễm HCV không xơ gan. Dùng chung với thức ăn giúp tăng hấp thu glecaprevir lên 83 - 163%.

Đường thải trừ chủ yếu của thuốc là qua mật - phân, trong đó 92.1% lượng thuốc dùng được thải trừ qua phân và 0.7% thải trừ qua nước tiểu. Thời gian bán thải ($T_{1/2}$) khoảng 6 giờ.

Voxilaprevir

Voxilaprevir là chất ức chế protease NS3 được FDA phê duyệt (7/2017) sử dụng một lần trong ngày kết hợp với sofosbuvir (chất ức chế NS5B) và velpatasvir (chất ức chế NS5A). Voxilaprevir thể hiện hoạt tính *in vitro* mạnh chống các genotype HCV-1 - HCV-6 và cải thiện sự đề kháng của genotype 1 so với các chất ức chế protease NS3 khác. Trong một nghiên cứu ngẫu nhiên với liều lượng khác nhau ở giai đoạn 1, voxilaprevir cho thấy hoạt tính kháng virus mạnh khi có hoặc không có sự hiện diện của các đột biến NS3 có khả năng kháng với các chất ức chế protease khác [108].

Dạng sản phẩm kết hợp liều cố định với sofosbuvir và velpatasvir, voxilaprevir đạt nồng độ tối đa (C_{max}) là 192 ng/mL tại T_{max} là 4 giờ sau khi dùng. Voxilaprevir gắn kết hơn 99% với protein huyết tương.

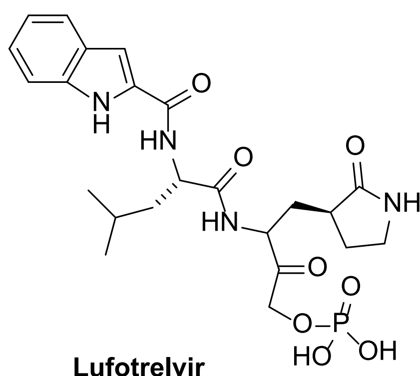
Voxilaprevir được chuyển hóa chủ yếu bởi CYP3A4 và ở mức độ thấp hơn bởi CYP2C8 và CYP1A2. Thải trừ chủ yếu qua mật. $T_{1/2}$ = 33 giờ.

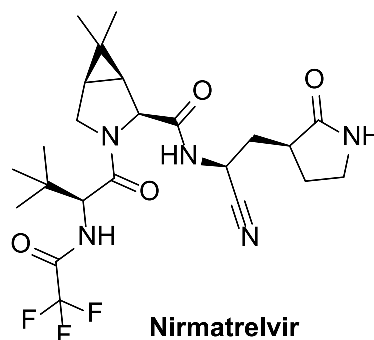
6.2.3. Chất ức chế protease SAR-CoV-2

Protease 3CL corona virus cắt nhiều vị trí trong polyprotein của virus này để tạo thành các protein chức năng cần thiết cho sự sao chép của virus; vị trí cắt thường là sau các amino acid glutamine.

- Lufotrelvir (PF-07304814) được phát hiện có tác dụng ức chế protease 3CL, chất này là một tiền dược phosphate của hydroxy ketone, hoạt chất được phóng thích khi vào cơ thể thể hiện hoạt tính tốt chống lại COVID-19 bao gồm một số chủng biến thể [123], nhưng thuốc này không có hoạt tính qua đường uống và phải được sử dụng bằng cách tiêm truyền tĩnh mạch.

- Nirmatrelvir (Xem chương 1 - phần 3.2.4) ức chế protease 3CL có thể sử dụng bằng đường uống được phát triển từ lufotrelvir.

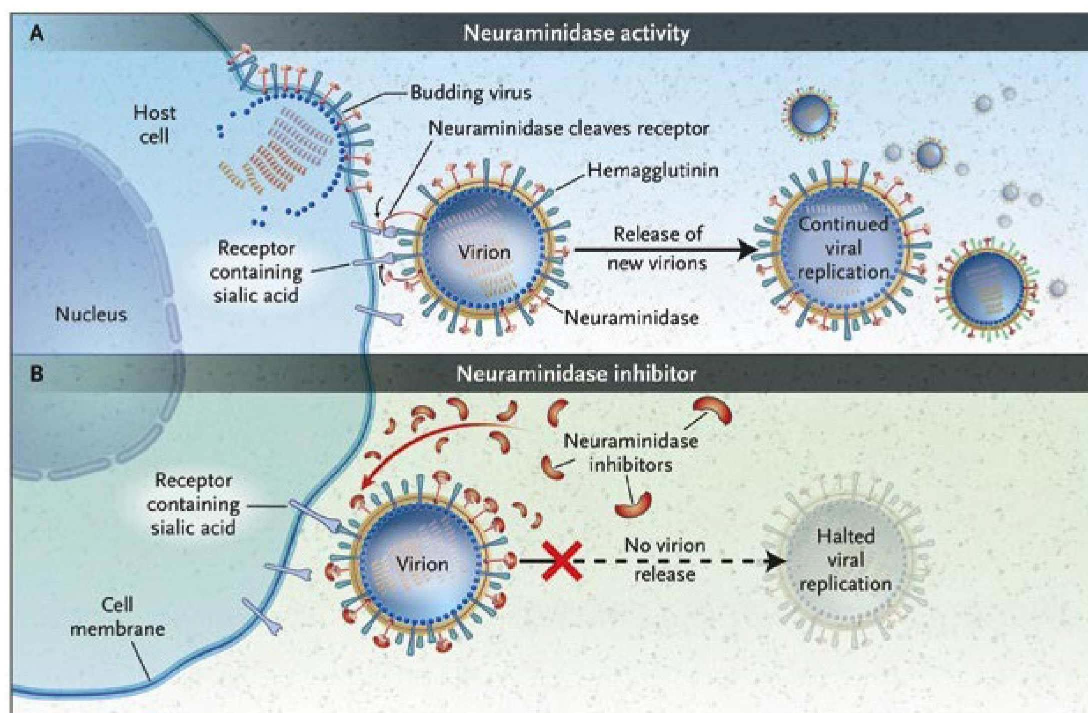




Kết hợp nirmatrelvir - ritonavir được FDA cấp phép sử dụng khẩn cấp để điều trị bệnh do coronavirus COVID-19 vào tháng 12 năm 2021. Ritonavir làm chậm quá trình chuyển hóa nirmatrelvir bởi các enzyme cytochrome để duy trì nồng độ hiệu quả của nirmaltrelvir trong máu [124].

7. THUỐC ỨC CHẾ ENZYME NEURAMINIDASE (Neuraminidase inhibitors)

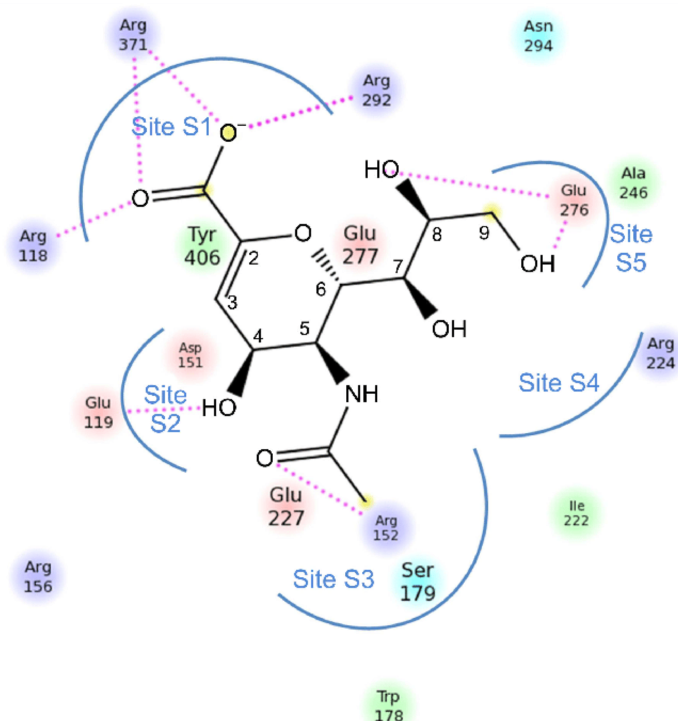
Capsid của virus cúm chứa hai glycoprotein: hemagglutinin và neuraminidase. Influenza (cả A và B) có chiến lược sao chép độc đáo bằng cách sử dụng hemagglutinin để gắn kết với thụ thể tế bào chủ [chứa một sialic acid tận cùng (*N*-acetylneuraminic acid, NANA)]; và dùng neuraminidase để rời khỏi tế bào chủ sau khi hoàn thành chu kỳ sao chép. Do đó, neuraminidase cần cho sự ly tách mảnh virus mới được hình thành từ tế bào. Thêm vào đó, neuraminidase cũng có thể đẩy mạnh chuyển động của virus qua màng nhầy hệ hô hấp, gia tăng tính gây nhiễm của virus. Vì vậy, neuraminidase của virus influenza được xem là mục tiêu thích hợp cho việc thiết kế các chất ức chế đặc hiệu.



Hình 7.87. Hoạt động của neuraminidase và chất ức chế neuraminidase [109]

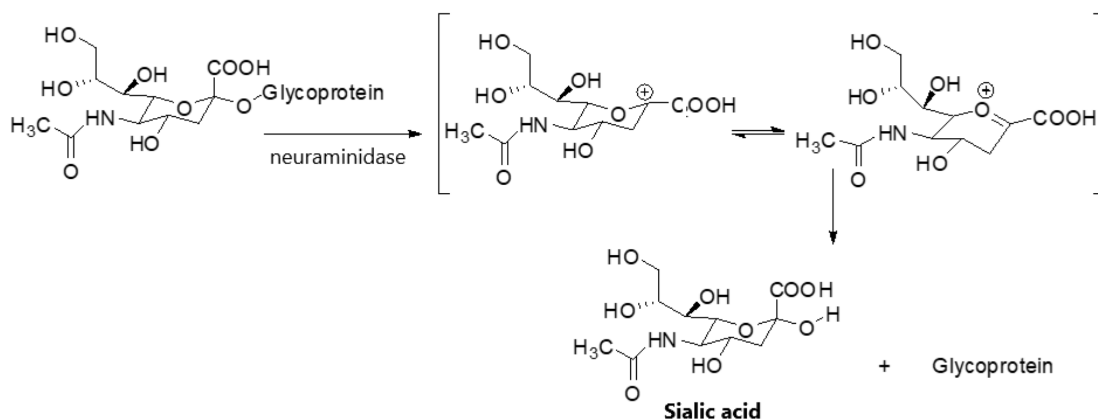
7.1. Neuraminidase

Neuraminidase là một glycoprotein tetramer với tiểu đơn vị có phân tử lượng 60 kDa. Enzyme này là một glycohydrolase có trách nhiệm trong việc tách phần sialic acid tận cùng liên kết với glycoprotein theo kiểu -ketosid trên sialoglycoprotein màng nhầy. Cấu trúc tinh thể học tia X của neuraminidase cho thấy trong khi các virus khác nhau có trình tự amino acid của neuraminidase khác nhau đáng kể, vị trí gắn kết sialic acid lại khá giống nhau đối với virus cúm A và B. Vị trí xúc tác của tất cả các neuraminidase virus cúm đều chứa ba arginine (Arg118, Arg292 và Arg371) gắn kết nhóm carboxylate của cơ chất sialic acid; một gốc arginine (Arg152) tương tác với nhóm thế acetamido của cơ chất và một gốc glutamate (Glu276) tạo liên kết hydro với các nhóm hydroxyl 8 và 9 của cơ chất [110].



Hình 7.88. Sialic acid tại vị trí xúc tác của neuraminidase [111]

Ngoài ra, quá trình thủy phân sialoglycoprotein được cho là diễn ra thông qua oxonium, chất trung gian trong trạng thái chuyển tiếp (Hình 7.89).

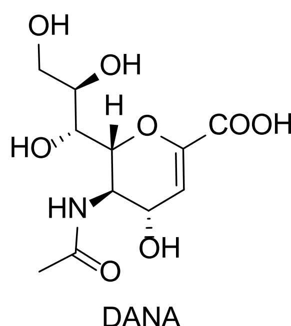


Hình 7.89. Hoạt tính glycohydrolase của neuraminidase

7.2. Chất ức chế neuraminidase

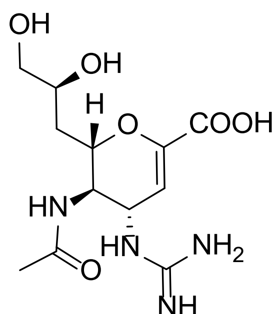
Chất ức chế neuraminidase ngăn cản sự phân cắt sialic acid từ hemagglutinin, dẫn đến sự kết tụ của virus hoặc gắn kết không phù hợp với hemagglutinin, cản trở sự lây lan

của virus. Nhiều chất tương đồng với trạng thái chuyển tiếp nêu trên (Hình 7.89) là những chất ức chế neuraminidase mạnh. Hợp chất đầu tiên trong số đó, 2-deoxy-2,3-dehydro-*N*-acetylneuraminic acid (DANA) (Hình 7.90) là chất ức chế neuraminidase nhưng thiếu tính đặc hiệu đối với neuraminidase của virus cúm. Việc xác định cấu trúc tinh thể của neuraminidase cho phép nghiên cứu vị trí liên kết với sialic acid, dẫn đến sự phát triển của zanamivir, tiếp đó là oseltamivir và peramivir.



Hình 7.90. Chất tương đồng trạng thái chuyển tiếp không bão hòa (DANA)

7.2.1. Zanamivir



Hình 7.91. Zanamivir

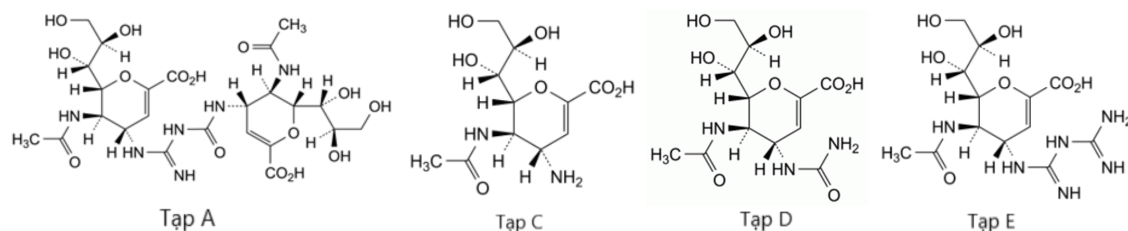
Các nghiên cứu cho thấy rằng thay thế 4-hydroxy trong DANA bằng nhóm amino hoặc guanidino lớn hơn giúp tăng sự gắn kết của chất ức chế với neuraminidase. Dẫn xuất 4-amino gắn kết với glutamic acid (Glu119) của enzyme thông qua cầu muối (salt bridge), trong khi guanidino có thể hình thành cả cầu muối với Glu119 và tương tác tĩnh điện với Glu227. Kết quả của những thay thế này làm gia tăng đáng kể khả năng gắn kết với neuraminidase, dẫn đến ức chế hiệu quả enzyme. Zanamivir được phát triển như tác nhân hiệu quả chống lại virus cúm A và B.

- Kiểm nghiệm (BP 2018)

Zanamivir có dạng bột trắng hoặc gần như trắng, háo ẩm nhẹ.

+ *Định tính*: Phổ IR, năng suất quay cực (chất được làm khô).

+ *Kiểm tinh khiết*: Năng suất quay cực riêng: +36.0° đến +38.5°; tạp liên quan được kiểm bằng sắc ký lỏng (Hình 7.92).



Hình 7.92. Một số tạp chất liên quan được đề cập trong chuyên luận zanamivir (BP 2018)

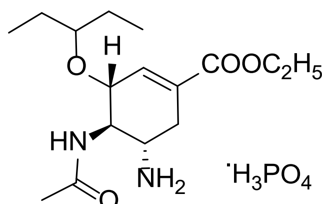
+ *Định lượng*: Sắc ký lỏng

- Sử dụng

Zanamivir hiệu quả khi dùng qua đường mũi, đường phúc mạc và đường tĩnh mạch (IV), nhưng không có tác dụng khi dùng đường uống. Các nghiên cứu trên động vật cho thấy 68% thuốc được tìm thấy trong nước tiểu sau khi dùng qua đường phúc mạc, 43% trong nước tiểu sau khi dùng qua đường mũi và chỉ 3% được tìm thấy trong nước tiểu sau khi uống. Dữ liệu trên người cho kết quả tương tự như trong mô hình động vật. Các nghiên cứu về hiệu quả trên người với thuốc nhỏ mũi hoặc thuốc xịt cho thấy thuốc có hiệu quả khi được sử dụng trước và sau khi tiếp xúc với virus cúm A hoặc B. Được dùng trước khi nhiễm virus, thuốc làm giảm sự phát tán, nhiễm trùng và các triệu chứng của virus. Khi được sử dụng bắt đầu từ 26 hoặc 32 giờ sau khi nhiễm, thuốc giảm tải lượng virus và sốt.

Hiện tại, thuốc có sẵn dưới dạng bột khô để hít qua đường miệng cho người lớn và thanh thiếu niên có triệu chứng không quá 2 ngày. Zanamirvir có thể giải quyết nhanh hơn các triệu chứng cúm và cải thiện khả năng hồi phục (từ 7 ngày với giả dược đến 4 ngày với thuốc). Các nghiên cứu bổ sung gợi ý lợi ích dự phòng của zanamirvir khi dùng cho các thành viên trong gia đình sau khi một thành viên phát triển các triệu chứng giống như cúm.

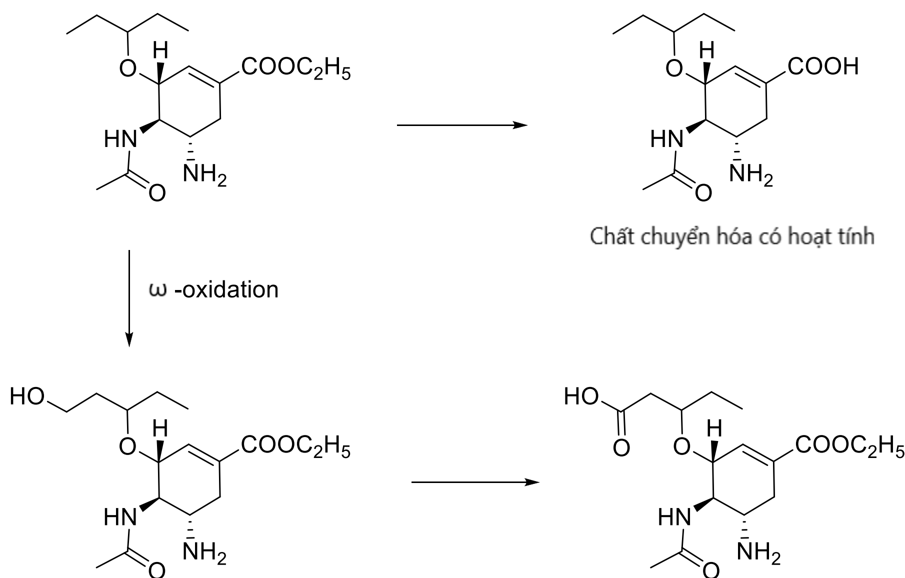
7.2.2. Oseltamivir phosphate



Hình 7.93. Oseltamivir phosphate

Oseltamivir được phát triển trong nỗ lực tìm kiếm chất ức chế neuraminidase tương đồng trạng thái chuyển tiếp carboxylic có thể sử dụng đường uống. Oseltamivir có các nhóm phân cực glycerol và guanidino (trong zanamivir) lần lượt được thay thế bởi nhánh bên (3-pentyloxy) thân dầu và nhóm amino. Nghiên cứu tinh thể học tia X cho thấy những nhóm thế này trong oseltamivir có thể khớp vào vị trí xúc tác của neuraminidase. Ngoài ra, chuyển nhóm carboxyl thành ethyl ester làm tăng sinh khả dụng đường uống của oseltamivir. Oseltamivir phosphate là chất ức chế neuraminidase đường uống đầu tiên được phê duyệt trị virus cúm A và B, được chỉ định để điều trị bệnh cấp tính không biến chứng do nhiễm cúm. Gần đây, thuốc được phê duyệt để phòng ngừa nhiễm cúm A và B ở người lớn, thanh thiếu niên và trẻ em từ 1 tuổi trở lên. Thuốc có hiệu quả trong điều trị cúm nếu được sử dụng trong vòng 2 ngày sau khi xuất hiện các triệu chứng. Oseltamivir được hấp thu dễ dàng qua đường tiêu hóa sau khi uống. Tác dụng phụ với oseltamivir thường nhẹ, bao gồm buồn nôn và nôn, và chủ yếu xảy ra trong hai ngày đầu điều trị.

Tiền dược oseltamivir được chuyển hóa phần lớn trong gan qua quá trình thủy phân ester thành carboxylic acid có hoạt tính (Hình 7.94). Hai chất chuyển hóa oxy hóa cũng được phân lập, với sản phẩm oxy hóa chính là ω-cacboxylic acid.



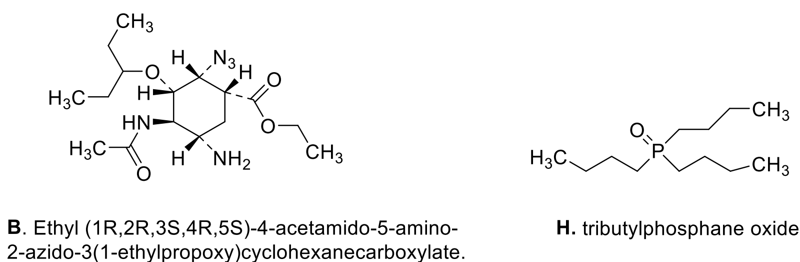
Hình 7.94. Chuyển hóa của oseltamivir [1]

- Kiểm nghiệm (BP 2018)

\+ Bột trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước và methanol, thực tế không tan trong methylene chloride.

\+ Định tính: Phổ IR, năng suất quay cực, phản ứng của nhóm phosphate.

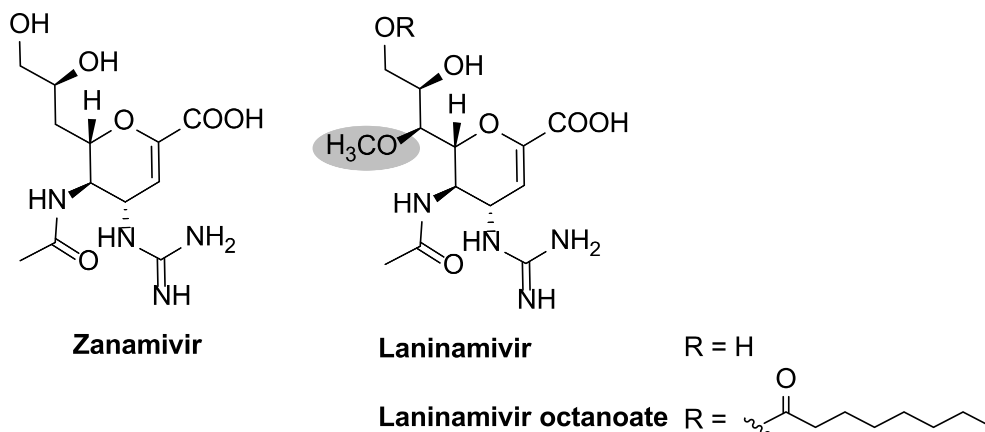
\+ Kiểm tinh khiết: Năng suất quay cực -30.7^o đến -32.6^o (chất khan); tạp liên quan: tạp B (phương pháp sắc ký lỏng kết hợp khối phổ); tạp H (phương pháp sắc ký khí).



Hình 7.95. Tạp B và H được đề cập trong chuyên luận oseltamivir phosphate (BP 2018)

7.2.3. Laninamivir

Laninamivir có cấu trúc tương tự zanamivir, đều chứa nhóm 4-guanidino (không có trong DANA), riêng laninamivir chứa thêm nhóm 7-methoxy.

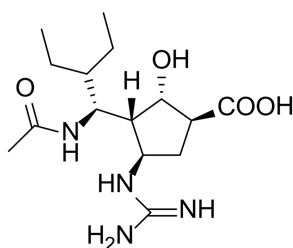


Hình 7.96. Sự khác nhau về cấu trúc giữa zanamivir và laninamivir

Laninamivir và tiền dược laninamivir octanoate (LO) được phê duyệt để sử dụng ở Nhật Bản (tháng 9 năm 2010). Các nghiên cứu lâm sàng xác nhận rằng tiền chất laninamivir octanoate có hiệu quả ở cả trẻ em và người lớn, tuy nhiên LO vẫn chưa được chứng minh là có hiệu quả hơn oseltamivir trong việc chống lại thể H1N1 đột biến His274Tyr kháng oseltamivir ở bệnh nhân người lớn. Theo cách tương tự mà oseltamivir được chuyển thành oseltamivir carboxylate trong gan, laninamivir octanoate được chuyển thành laninamivir trong phổi [112]. Sau khi sử dụng LO qua đường hô hấp, chất chuyển hóa có hoạt tính laninamivir được tạo ra bởi quá trình thủy phân gốc ester octanoyl bằng enzyme. Nồng độ cao được duy trì và kéo dài của laninamivir trong các mô hô hấp là do một loạt ba bước liên tiếp: hấp thu LO vào các tế bào biểu mô đường thở bằng cách khuếch tán thụ động, thủy phân LO thành laninamivir bởi esterase nội bào, sau đó, laninamivir được giữ lại trong tế bào trong thời gian dài do ít thâm nhập vào đường thở và/hoặc hệ thống tuần hoàn do đặc tính ưa nước. Chiến lược phát triển tiền dược này có thể hữu ích cho việc phân phối thuốc nhắm vào phổi [113].

LO cho thấy tác dụng kháng virus kéo dài trái ngược với oseltamivir và zanamivir, hiện đang được sử dụng ở Nhật Bản để điều trị và dự phòng nhiễm virus cúm. Các thử nghiệm lâm sàng ở người cho thấy, sau một lần hít LO (40 mg), laninamivir được tạo ra và duy trì nồng độ cao trong dịch niêm mạc biểu mô (ELF), vị trí có thể hoạt động của chất ức chế neuraminidase, vượt quá nồng độ ức chế *in vitro* 50% đối với neuraminidase virus cúm trong hơn 10 ngày. Sự thải trừ chậm của laninamivir cũng được quan sát thấy trong tuần hoàn chung, với thời gian bán thải ($T_{1/2}$) khoảng 3 ngày. Những đặc điểm dược động học thuận lợi này được cho là dẫn đến hiệu quả lâu dài [114].

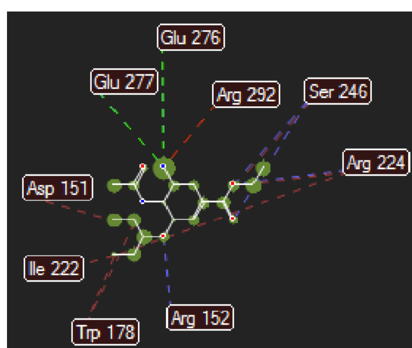
7.2.4. Peramivir



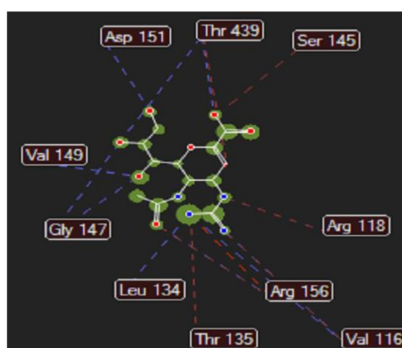
Hình 7.97. Peramivir

Peramivir được FDA phê duyệt tháng 12 năm 2014 để điều trị nhiễm cúm ở người lớn. Việc dùng peramivir chỉ giới hạn ở những trường hợp nhiễm H1N1 trầm trọng mà những thuốc kháng virus khác (bao gồm chất ức chế neuraminidase như oseltamivir và zanamivir) thất bại. Cấu trúc của peramivir khác với oseltamivir và zanamivir ở điểm chứa vòng cyclopentan thay cho nhân sialic acid. Toàn bộ phân tử khá phân cực nên sinh khả dụng đường uống giảm mạnh so với oseltamivir. Cấu trúc peramivir được phát triển từ thiết kế thuốc dựa trên cấu trúc. Docking *in silico* cho thấy peramivir gắn hiệu quả với bốn túi gắn kết được biết tại vị trí xúc tác của neuraminidase (Hình 7.98). Các nghiên cứu cho thấy peramivir có khả năng ức chế neuraminidase của cúm H1N1 cao hơn so với zanamivir và oseltamivir [115].

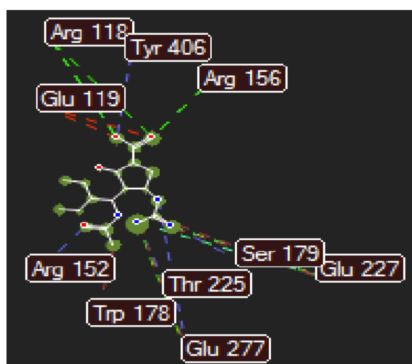
Peramivir được dùng bằng cách tiêm tĩnh mạch liều duy nhất (0.5-8 mg/kg) hoặc liều ngày 2 lần (4 mg/kg). $T_{1/2}$ từ 7.7-20 giờ. Đào thải hơn 90% ở dạng không đổi trong nước tiểu.



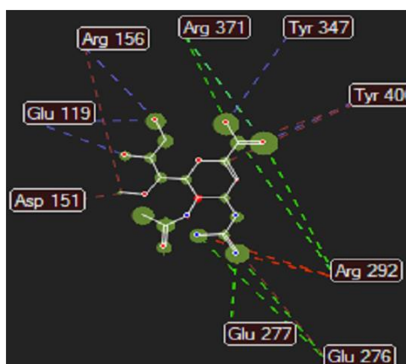
Oseltamivir



Zanamivir



Peramivir



Laninamivir

Hình 7.98. Docking oseltamivir, zanamivir, peramivir và laninamivir trong túi liên kết của neuraminidase cho thấy các tương tác khác nhau (liên kết hydro, tương tác tĩnh điện và steric được thể hiện bằng các đường chấm màu xanh lam, xanh lục và đỏ tương ứng) [116]

7.3. Sự đề kháng

Vị trí liên kết với sialic acid là mục tiêu khả thi đối với các chất ức chế neuraminidase như oseltamivir, zanamivir, peramivir; tuy nhiên, sự xuất hiện các đột biến kháng thuốc phổ biến (H274Y, N294S và Y252H) đối với chủng A/H1N1 cũng như chủng H5N1 hạn chế đáng kể hiệu quả của oseltamivir nói riêng, gây ra tình trạng kháng thuốc từ 81 - 256 lần hơn so với các chủng tự nhiên (wild type). Nghiên cứu cho thấy nguồn gốc của việc kháng thuốc đối với các thể đột biến H274Y, N294S và Y252H là do sự xâm nhập của các phân tử nước ở lối vào của vị trí liên kết trong neuraminidase. Sự tái tổ chức không gian của các amino acid xung quanh vị trí liên kết làm thay đổi điện thế tĩnh điện dường như là một yếu tố chính chi phối tính chọn lọc của thuốc đối với các thể đột biến khác nhau. Cấu trúc zanamivir chiếm không gian lớn hơn oseltamivir, do đó ngăn chặn sự xâm nhập của các phân tử nước. Trong khi đó oseltamivir thâm nhập sâu vào túi liên kết và làm thay đổi đáng kể trạng thái tĩnh điện của amino acid liên quan đến vị trí xúc tác của neuraminidase [117].

8. INTERFERON

Isaacs và Lindenmann khám phá interferon vào năm 1957. Sự giao thoa virus (viral interference) được quan sát thấy khi gây nhiễm tế bào với virus. Interferon được phân lập và cho thấy có khả năng bảo vệ tế bào khỏi bị nhiễm nặng hơn. Khi được đưa vào những tế bào khác hay động vật, interferon thể hiện những hoạt tính sinh học như ức chế sự phát triển của virus, ức chế sự nhân lên của tế bào, và điều biến miễn dịch (immunomodulatory). Kết quả này cho phép suy đoán interferon là yếu tố kháng virus tự nhiên, có thể được hình thành trước sự sản xuất kháng thể, và có thể liên quan đến cơ chế đề kháng bình thường chống lại việc nhiễm virus. Một số nghiên cứu liên kết interferon với hormone polypeptide đề nghị rằng interferon thực hiện chức năng liên lạc tế bào-tế bào bằng cách truyền những tín hiệu đặc biệt. Gần đây những tính chất chống khối u và chống ung thư của interferon gợi lên mối quan tâm toàn cầu về việc có thể sử dụng tác nhân này trong điều trị bệnh do virus, ung thư và rối loạn suy giảm miễn dịch. Các tế bào chủ đáp ứng với những chất cảm ứng khác nhau để tổng hợp interferon [1].

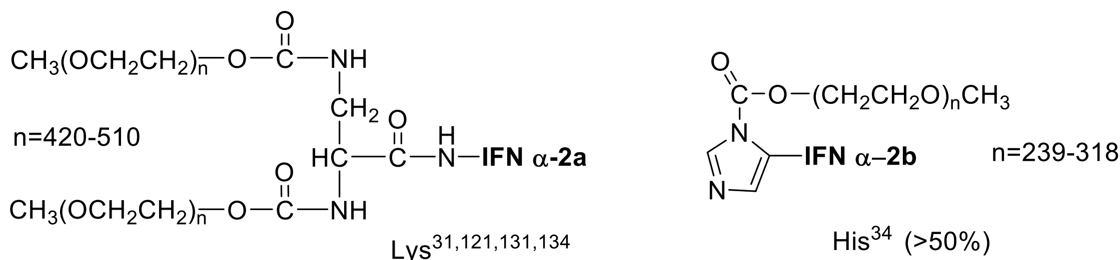
8.1. Cấu trúc interferon

Interferon bao gồm một hỗn hợp các protein nhỏ với phân tử lượng 20.000 - 160.000 Da. Đây là những glycoprotein thể hiện hoạt tính kháng virus đặc hiệu loài. Interferon người được chia thành 3 loại: alpha, beta và gamma. Loại α được tiết bởi bạch cầu non-T lymphocyte; loại β được tiết bởi nguyên bào sợi (fibroblast) người. Tế bào lymphoid (T lymphocyte) hoặc được tiếp xúc với kháng nguyên đã được mẫn cảm trước, hoặc bị kích thích phân chia bởi các chất gây gián phân, tiết ra interferon-α. Interferon-γ còn được gọi là interferon "miễn dịch". Interferon có hoạt tính ở nồng độ rất thấp. Hiện interferon sử dụng trong lâm sàng được sản xuất bằng kỹ thuật DNA tái tổ hợp (recombination).

Interferon α-2a chứa lysine tai vị trí 23 và histidine tại vị trí 34; interferon α-2b chứa arginine tại 23 và histidine tại 34. Việc gắn thêm polyethylene glycol (PEG) tạo ra peg-interferon, là dạng interferon có tác dụng kéo dài. PEG là một phân tử trơ, làm giảm sự phân hủy của protein khi liên kết chéo (cross-linked) mà vẫn giữ được hoạt tính sinh học của protein.

Sự khác biệt chính giữa peg-interferon-alfa 2a và 2b đến từ cấu trúc của chuỗi PEG và hiệu quả của nó. Peg-interferon-alfa-2a (PEG-IFN-alfa-2a) chứa một chuỗi PEG 40kDa phân nhánh, chuỗi này được gắn cộng hóa trị thông qua các liên kết amide bền vững với các gốc lysine của interferon-alfa-2a (Lys31, Lys121, Lys131 hoặc Lys134) và do đó, lưu thông trong cơ thể như một phân tử nguyên vẹn. Tuy nhiên, peg-interferon-alfa-2b (PEG-IFN alfa-2b) chứa một chuỗi PEG thẳng, 12 kDa, được gắn cộng hóa trị, chủ yếu với histidine-34 (>50%) của interferon-alfa-2b thông qua một liên kết urethane không bền, liên kết này sẽ bị thủy phân sau khi được tiêm vào cơ thể, và do đó, phóng thích interferon-alfa-2b tự nhiên.

Peg-interferon-alfa-2a có thời gian bán hủy dài hơn peg-interferon-alfa-2b.



Hình 7.99. Peg-interferon-alfa 2a và 2b

8.2. Tính chất - Kiểm nghiệm (BP 2018)

Bảng 7.11. Tóm tắt tính chất và phương pháp kiểm nghiệm interferon

	Tính chất	Định tính	Kiểm tinh khiết	Định lượng
γ-Interferon -1b	- Chất lỏng trong suốt, không màu hoặc hơi vàng - Bảo quản trong bao bì kín, tránh ánh sáng và ở nhiệt độ -70 °C.	A. Thể hiện hoạt tính sinh học B. Kiểm tra điện di đồ so với dung dịch đối chiếu C. Bản đồ peptide D. Phân tích trình tự 'N - terminal'	+ pH 4.5 - 5.5 + Dimer và oligomer + Monomer và chất kết tụ + Các dạng bị oxy hóa và 'deamidated' hóa và heterodimer + Tạp chất có khối lượng phân tử khác với KLPT của interferon γ-1. + Norleucin + Độc tố vi khuẩn	Định lượng protein bằng phương pháp quang phổ UV 220 - 340 nm

	Tính chất	Định tính	Kiểm tinh khiết	Định lượng
Interferon α-2a và Interferon α-2b	- Chất lỏng trong suốt, không màu hoặc hơi vàng - Bảo quản trong bao bì kín, tránh ánh sáng, hoặc ở nhiệt độ dưới -20 °C.	A. Thể hiện hoạt tính sinh học B. Kiểm tra bằng hiện tượng hội tụ đẳng điện. C. Kiểm tra điện di đồ so với dung dịch đối chiếu D. Bản đồ peptide	+ Tạp chất có khối lượng phân tử khác với KLPT của interferon α-2. + Các protein liên quan + Độc tố vi khuẩn	Định lượng protein

8.3. Cơ chế tác động

Mặc dù interferon là chất trung gian của đáp ứng miễn dịch, các cơ chế kháng virus khác nhau được đề nghị. Interferon α có phổ kháng virus rộng, chất này tác động lên tế bào nhiễm virus bằng cách kết hợp với những thụ thể đặc hiệu trên bề mặt tế bào. Interferon α ức chế sự phiên mã và dịch mã mARN. Những nghiên cứu trong hệ tế bào tự do chỉ ra rằng sự thêm adenosine triphosphate và ARN sợi đôi vào dịch chiết tế bào được xử lý với interferon gây hoạt hóa các protein ARN tế bào và một endonuclease của tế bào. Sự hoạt hóa này dẫn đến sự hình thành protein ức chế dịch mã, làm ngưng sản xuất enzyme của virus, nucleic acid, và những protein cấu trúc. Interferon cũng có thể tác động bằng cách ngưng tổng hợp enzyme cần thiết cho sự phóng thích virus.

8.4. Sử dụng lâm sàng

Interferon được thử nghiệm sử dụng trong nhiễm virus viêm gan siêu vi B mãn tính, herpetic keratitis, herpes genitalis, herpes zoster, varicella-zoster, viêm gan mãn tính, cúm và nhiễm siêu vi gây bệnh cảm thông thường. Thuốc còn được dùng trong điều trị ung thư như ung thư vú, carcinoma phổi và đa u tủy xương (multiple myeloma). Interferon có vài thành công khi được sử dụng như một tác nhân phòng ngừa lây nhiễm CMV ở người nhận thận ghép. FDA phê duyệt interferon tái tổ hợp α-2a, α-2b và γ-interferon trong việc điều trị bệnh bạch cầu tế bào lông (hairy cell leukemia) (bệnh hiếm), sarcoma Kaposi's liên quan đến AIDS. Tiêm dưới da interferon α-2b tái tổ hợp được phê duyệt trong điều trị viêm gan siêu vi C mãn tính. Vài quốc gia chấp thuận sử dụng interferon trong điều trị ung thư như đa u tủy xương, melanoma ác tính (ung thư da) và Kaposi's sarcoma (ung thư đi kèm với AIDS).

Bảng 7.12. Hoạt tính và công dụng của các interferon dùng trong lâm sàng

	Phổ hoạt tính	Dạng liều lượng
Interferon α-2a	Viêm gan mạn tính, CMV, HSV, papillomavirus, rhinovirus, virus khác	Thuốc tiêm 3, 5, 10, 18, 25, 50 triệu đơn vị/mL
Interferon α-2b	Viêm gan mạn tính B và C và nhiều virus khác	Thuốc tiêm 3, 5, 10, 18, 25, 50 triệu đơn vị/mL
γ-Interferon	Viêm gan mạn tính B và C và nhiều virus khác	Thuốc tiêm 150 mcg/0.5 mL
Tilorone	Cảm ứng sản xuất interferon	Liều đơn thay đổi, dùng bằng đường tiêm

8.5. Dược động học

Dược động học của interferon chưa được hiểu đầy đủ. Nồng độ tối đa trong máu sau khi tiêm bắp đạt được trong 5 - 8 giờ. Interferon không thấm tốt qua dịch não tủy. Khi uống, interferon không cho thấy nồng độ huyết thanh có thể phát hiện được, vì vậy trong lâm sàng không sử dụng đường uống. Sau khi tiêm bắp và dưới da, nồng độ thuốc trong huyết tương liên quan đến liều. Công dụng lâm sàng của interferon bị hạn chế đối với việc sử dụng tại chỗ (phun mũi) trong phòng ngừa và điều trị nhiễm rhinovirus.

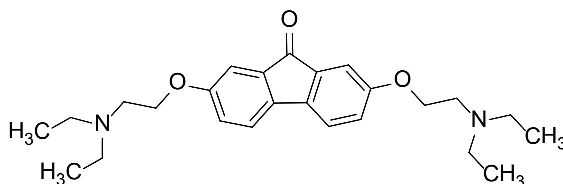
8.6. Tác dụng phụ

Phản ứng phụ có hại và độc tính bao gồm hội chứng giống như cúm: sốt, ớn lạnh, đau đầu, đau cơ, buồn nôn, nôn mửa, tiêu chảy, suy tủy xương, giảm bạch cầu, rụng tóc, chán ăn, sụt cân, tâm thần lú lẫn, thay đổi hành vi. Dùng qua mũi: khô, lở, loét màng nhầy.

8.7. Sự cảm ứng interferon

Do virus cảm ứng sự phóng thích interferon, nên sự sản xuất hay phóng thích interferon ở người có thể được kích thích bằng cách cho sử dụng những chất cảm ứng hóa học. Những phân tử nhỏ khác nhau (propandiamine thế) và những polymer lớn (sợi đôi polynucleotide) được dùng để cảm ứng interferon. Statolon, một RNA sợi đôi thiên nhiên tạo ra trong môi trường nuôi cấy *Penicillium stoloniferum* và một phức chuỗi đôi polyriboinosinic acid và polyribocytidylic acid (poly I:C) được sử dụng như những chất cảm ứng không virus cho việc phóng thích interferon. Poly I:C được ổn định với poly L-lysine và carboxymethylcellulose (poly ICLC) được sử dụng thực nghiệm ở người. Về phương diện lâm sàng chất này ngăn cản chứng sổ mũi (coryza) khi được dùng tại chỗ ở mũi và ở túi màng kết (conjunctival sacs), có hiệu quả hơn poly I:C. Chất cảm ứng interferon khác là ampligen, một dẫn chất polynucleotide của poly I:C với uridine được đặt cách khoảng. Nó có hoạt tính kháng HIV *in vitro* và là một chất điều biến miễn dịch.

Chất cảm ứng hóa học khác, như copolymer pyran tiloron, diethylaminoethyl dextran và heparin, cũng được sử dụng. Tilorone (Hình 7.100) là chất cảm ứng interferon hiệu quả ở chuột nhưng ít hiệu quả ở người. Việc dùng khởi đầu chất cảm ứng interferon nhỏ vào mũi sau khi tiếp xúc với rhinovirus được cho là thành công trong việc ngừa những bệnh đường hô hấp. Tuy nhiên, sự thành công về mặt lâm sàng của interferon và chất cảm ứng của nó chưa được xác lập, mặc dù chúng có thể đóng vai trò có ý nghĩa trong miễn dịch qua trung gian tế bào trong nhiễm virus và ung thư.



Hình 7.100. Tilorone

Câu hỏi tự lượng giá

1. So sánh cấu trúc, cơ chế tác dụng và đường sử dụng của sofosbuvir và remdesivir, giải thích sự khác biệt?
2. Giải thích lý do phát triển dạng tiền dược của tenofovir? TAF so với TDF có ưu điểm gì hơn? Tại sao?

Danh mục từ viết tắt

3-TC:	lamivudine	DOR:	doravirine
ABC:	abacavir	EFV:	efavirenz
ACV:	acyclovir	ETR:	etravirine
Ara-A:	vidarabine	ETV:	entecavir
AZT:	zidovudine	FCV:	famciclovir
BVDU:	brivudine	FTC:	emtricitabine
BXM:	baloxavir marboxil	GCV:	ganciclovir
d4T:	stavudine	HPMPC:	cidofovir
ddC:	zalcitabine	IDU:	idoxuridine
ddI:	didanosine	IFN:	interferon
DLV:	delavirdine	IN:	integrase

LdT: telbivudine

LO: lanamivir octanoate

NNIBP: NNRTI binding pocket

NNRTI: nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors

NRTI: nucleoside reverse transcriptase inhibitors

NVP: nevirapine

PCV: penciclovir

PI : protease inhibitor

PMEA: adefovir dipivoxil

RdRp: RNA-dependent RNA polymerase

RPV: rilpivirine

TAF: tenofovir alafenamide

TDF: tenofovir diisoproxil fumarate

TFT : trifluridine

VACV: valaciclovir

VGCV: valganciclovir

Tài liệu tham khảo

1. Foye WO, Lemke TL, Williams DA, editors. Foye's principles of medicinal chemistry. 7th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2013. p.1500.
2. Patrick GL. An introduction to medicinal chemistry. Fifth edition. Oxford: Oxford University Press; 2013. p.789.
3. De Clercq E, Li G. Approved Antiviral Drugs over the Past 50 Years. Clin Microbiol Rev. 2016 Jul; 29(3): 695-747.
4. Golan DE, Armstrong EJ, Armstrong AW. Principles of pharmacology: the pathophysiologic basis of drug therapy. 2017.
5. Bright RA. Adamantane Resistance Among Influenza A Viruses Isolated Early During the 2005-2006 Influenza Season in the United States. JAMA. 2006 Feb 22; 295(8): 891.
6. Deyde VM, Xu X, Bright RA, Shaw M, Smith CB, Zhang Y, et al. Surveillance of Resistance to Adamantanes among Influenza A(H3N2) and A(H1N1) Viruses Isolated Worldwide. J Infect Dis. 2007 Jul 15; 196(2): 249-257.
7. He G, Qiao J, Dong C, He C, Zhao L, Tian Y. Amantadine-resistance among H5N1 avian influenza viruses isolated in Northern China. Antiviral Res. 2008 Jan; 77(1): 72-76.
8. Stouffer AL, Acharya R, Salom D, Levine AS, Di Costanzo L, Soto CS, et al. Structural basis for the function and inhibition of an influenza virus proton channel. Nature. 2008 Jan 31; 451(7178): 596-599.

9. Matthews T, Salgo M, Greenberg M, Chung J, DeMasi R, Bolognesi D. Enfuvirtide: the first therapy to inhibit the entry of HIV-1 into host CD4 lymphocytes. Nat Rev Drug Discov. 2004 Mar; 3(3): 215-225.
10. Bai X, Wilson KL, Seedorff JE, Ahrens D, Green J, Davison DK, et al. Impact of the Enfuvirtide Resistance Mutation N43D and the Associated Baseline Polymorphism E137K on Peptide Sensitivity and Six-Helix Bundle Structure. Biochemistry. 2008 Jun; 47(25): 6662-6670.
11. Berkhout B, Eggink D, Sanders RW. Is there a future for antiviral fusion inhibitors? Curr Opin Virol. 2012 Feb; 2(1): 50-59.
12. Sayana S, Khanlou H. Maraviroc: a new CCR5 antagonist. Expert Rev Anti Infect Ther. 2009 Feb; 7(1): 9-19.
13. Kanmogne G, Woollard S. Maraviroc: a review of its use in HIV infection and beyond. Drug Des Devel Ther. 2015 Oct; 5447.
14. Meanwell NA, Krystal MR, Nowicka-Sans B, Langley DR, Conlon DA, Eastgate MD, et al. Inhibitors of HIV-1 Attachment: The Discovery and Development of Temsavir and its Prodrug Fostemsavir. J Med Chem. 2018 Jan 11; 61(1): 62-80.
15. Bouba Y, Berno G, Fabeni L, Carioti L, Salpini R, Aquaro S, et al. Identification of gp120 polymorphisms in HIV-1 B subtype potentially associated with resistance to fostemsavir. J Antimicrob Chemother. 2020 Jul 1;75(7): 1778-1786.
16. Zhang X, Ding X, Zhu Y, Chong H, Cui S, He J, et al. Structural and functional characterization of HIV-1 cell fusion inhibitor T20: AIDS. 2019 Jan; 33(1): 1-11.
17. Xu G, Guo J, Wu Y. Chemokine Receptor CCR5 Antagonist Maraviroc: Medicinal Chemistry and Clinical Applications. Curr Top Med Chem. 2014 Sep 31; 14(13): 1504-1514.
18. Tan Q, Zhu Y, Li J, Chen Z, Han GW, Kufareva I, et al. Structure of the CCR5 Chemokine Receptor-HIV Entry Inhibitor Maraviroc Complex. Science. 2013 Sep 20; 341(6152): 1387-1390.
19. Wang T, Ueda Y, Zhang Z, Yin Z, Matiskella J, Pearce BC, et al. Discovery of the Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Attachment Inhibitor Temsavir and Its Phosphonooxymethyl Prodrug Fostemsavir. J Med Chem. 2018 Jul 26; 61(14): 6308-6327.
20. Pancera M, Lai Y-T, Bylund T, Druz A, Narpala S, O'Dell S, et al. Crystal structures of trimeric HIV envelope with entry inhibitors BMS-378806 and BMS-626529. Nat Chem Biol. 2017 Oct; 13(10): 1115-1122.

21. Patel IH, Zhang X, Nieforth K, Salgo M, Buss N. Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Drug Interaction Potential of Enfuvirtide: Clin Pharmacokinet. 2005; 44(2): 175-186.

22. Markham A. Fostemsavir: First Approval. Drugs. 2020 Sep; 80(14): 1485-1490.

23. Blair HA. Ibalizumab: A Review in Multidrug-Resistant HIV-1 Infection. Drugs. 2020 Feb; 80(2): 189-196.

24. Andrei G, De Clercq E, Snoeck R. Viral DNA Polymerase Inhibitors. In: Raney KD, Gotte M, Cameron CE, editors. Viral Genome Replication [Internet]. Boston, MA: Springer US; 2009.

25. Seley-Radtke KL, Yates MK. The evolution of nucleoside analogue antivirals: A review for chemists and non-chemists. Part 1: Early structural modifications to the nucleoside scaffold. Antiviral Res. 2018 Jun; 154: 66-86.

26. Topalis D, Gillemot S, Snoeck R, Andrei G. Distribution and effects of amino acid changes in drug-resistant α and β herpesviruses DNA polymerase. Nucleic Acids Res. 2016 Sep 29; gkw875.

27. Bacon TH, Levin MJ, Leary JJ, Sarisky RT, Sutton D. Herpes Simplex Virus Resistance to Acyclovir and Penciclovir after Two Decades of Antiviral Therapy. Clin Microbiol Rev. 2003 Jan; 16(1): 114-128.

28. Chou SW. Cytomegalovirus drug resistance and clinical implications. Transpl Infect Dis. 2001 Dec; 3: 20-24.

29. Gad SC. Drug discovery handbook [Internet]. Hoboken, N.J.: Wiley-Interscience; 2005.

30. Dược điển Việt Nam 5. Nhà xuất bản Y học; 2018.

31. Council of Europe, European Pharmacopoeia Commission, European Directorate for the Quality of Medicines & Healthcare. European pharmacopoeia. 2019.

32. Gao H, Mitra AK. Synthesis of Acyclovir, Ganciclovir and Their Prodrugs: A Review. Synthesis. 2000; 2000(03): 329-351.

33. Simpson CA, Zappala AF. Procedure for Assay and Stability Determination of Idoxuridine. J Pharm Sci. 1964 Oct; 53(10): 1201-1204.

34. Andrei G, Balzarini J, Fiten P, De Clercq E, Opdenakker G, Snoeck R. Characterization of Herpes Simplex Virus Type 1 Thymidine Kinase Mutants Selected under a Single Round of High-Dose Brivudin. J Virol. 2005 May 1; 79(9): 5863-5869.

35. Bleymehl K, Cinatl J, Schmidt-Chanasit J. Phenotypic and genetic characterization of varicella-zoster virus mutants resistant to acyclovir, brivudine and/or foscarnet. Med Microbiol Immunol (Berl). 2011 Aug; 200(3): 193-202.

36. Tu T, Budzinska M, Shackel N, Urban S. HBV DNA Integration: Molecular Mechanisms and Clinical Implications. Viruses. 2017 Apr 10; 9(4): 75.
37. Clark DN, Hu J. Hepatitis B virus reverse transcriptase – Target of current antiviral therapy and future drug development. Antiviral Res. 2015 Nov; 123: 132-137.
38. Kimberlin DW. Antiviral Agents. In: Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases. Elsevier; 2018. pp.1551-1567.e6.
39. Kulikowski T. Structure-activity relationships and conformational features of antiherpetic pyrimidine and purine nucleoside analogues. A review. Pharm World Sci. 1994 Apr; 16(2): 127-138.
40. Bryant ML, Bridges EG, Placidi L, Faraj A, Loi A-G, Pierra C, et al. Antiviral l-Nucleosides Specific for Hepatitis B Virus Infection. Antimicrob Agents Chemother. 2001 Jan 1; 45(1): 229-235.
41. Langley DR, Walsh AW, Baldick CJ, Eggers BJ, Rose RE, Levine SM, et al. Inhibition of Hepatitis B Virus Polymerase by Entecavir. J Virol. 2007 Apr 15; 81(8): 3992-4001.
42. Aoki FY. Antivirals against Herpes Viruses. In: Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Elsevier; 2015. pp.546-562.e7.
43. Keam SJ, Chapman TM, Figgitt DP. Brivudin (Bromovinyl Deoxyuridine): Drugs. 2004; 64(18): 2091-2097.
44. Wassner C, Bradley N, Lee Y. A Review and Clinical Understanding of Tenofovir: Tenofovir Disoproxil Fumarate versus Tenofovir Alafenamide. J Int Assoc Provid AIDS Care JIAPAC. 2020 Jan 1; 19: 232595822091923.
45. Ray AS, Fordyce MW, Hitchcock MJM. Tenofovir alafenamide: A novel prodrug of tenofovir for the treatment of Human Immunodeficiency Virus. Antiviral Res. 2016 Jan; 125: 63-70.
46. Holý A. Antiviral acyclic nucleoside phosphonates structure activity studies. Antiviral Res. 2006 Sep; 71(2-3): 248-253.
47. Izzedine H, Launay-Vacher V, Deray G. Antiviral Drug-Induced Nephrotoxicity. Am J Kidney Dis. 2005 May; 45(5): 804-817.
48. Diederich WE, Steuber H, editors. Therapy of Viral Infections. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2015.
49. Esposito F, Corona A, Tramontano E. HIV-1 Reverse Transcriptase Still Remains a New Drug Target: Structure, Function, Classical Inhibitors, and New Inhibitors with Innovative Mechanisms of Actions. Mol Biol Int. 2012 Jun 20; 2012: 1-23.

50. Sarafianos SG. Structures of HIV-1 reverse transcriptase with pre- and post-translocation AZTMP-terminated DNA. EMBO J. 2002 Dec 1; 21(23): 6614-6624.

51. Sarafianos SG, Das K, Hughes SH, Arnold E. Taking aim at a moving target: designing drugs to inhibit drug-resistant HIV-1 reverse transcriptases. Curr Opin Struct Biol. 2004 Dec; 14(6): 716-730.

52. Sarafianos SG, Das K, Clark AD, Ding J, Boyer PL, Hughes SH, et al. Lamivudine (3TC) resistance in HIV-1 reverse transcriptase involves steric hindrance with beta -branched amino acids. Proc Natl Acad Sci. 1999 Aug 31; 96(18): 10027-10032.

53. Marchand B, Sarafianos SG. HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitors and Mechanisms of Resistance. In: Raney KD, Gotte M, Cameron CE, editors. Viral Genome Replication. Boston, MA: Springer US; 2009. pp.549-570.

54. Holec AD, Mandal S, Prathipati PK, Destache CJ. Nucleotide Reverse Transcriptase Inhibitors: A Thorough Review, Present Status and Future Perspective as HIV Therapeutics. Curr HIV Res. 2018 Jan 17; 15(6).

55. Sohl CD, Szymanski MR, Mislak AC, Shumate CK, Amiralaei S, Schinazi RF, et al. Probing the structural and molecular basis of nucleotide selectivity by human mitochondrial DNA polymerase γ. Proc Natl Acad Sci. 2015 Jul 14; 112(28): 8596-8601.

56. Feng JY, Murakami E, Zorca SM, Johnson AA, Johnson KA, Schinazi RF, et al. Relationship between Antiviral Activity and Host Toxicity: Comparison of the Incorporation Efficiencies of 2′,3′-Dideoxy-5-Fluoro-3′-Thiacytidine-Triphosphate Analogs by Human Immunodeficiency Virus Type 1 Reverse Transcriptase and Human Mitochondrial DNA Polymerase. Antimicrob Agents Chemother. 2004 Apr; 48(4): 1300-1306.

57. Ray AS, Schinazi RF, Murakami E, Basavapathruni A, Shi J, Zorca SM, et al. Probing the Mechanistic Consequences of 5-Fluorine Substitution on Cytidine Nucleotide Analogue Incorporation by HIV-1 Reverse Transcriptase. Antivir Chem Chemother. 2003 Jun; 14(3): 115-125.

58. Vardanyan Ṛuben, Hruby VJ. Synthesis of essential drugs. Amsterdam: Elsevier; 2006. p.617.

59. Zhan P, Chen X, Li D, Fang Z, De Clercq E, Liu X. HIV-1 NNRTIs: structural diversity, pharmacophore similarity, and impliations for drug design: HIV-1 NNRTIs. Med Res Rev. 2013 Jun; 33(S1): E1-72.

60. Usach I, Melis V, Peris J-E. Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors: a review on pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety and tolerability. J Int AIDS Soc. 2013 Jan; 16(1): 18567.

61. Rawal RK, Murugesan V, Katti SB. Structure-Activity Relationship Studies on Clinically Relevant HIV-1 NNRTIs. Curr Med Chem. 2012 Nov 1; 19(31): 5364-5380.

62. Arnold E, Martinez SE, Bauman JD, Das K. Considerations for Structure-Based Drug Design Targeting HIV-1 Reverse Transcriptase. In: Scapin G, Patel D, Arnold E, editors. Multifaceted Roles of Crystallography in Modern Drug Discovery. Dordrecht: Springer Netherlands; 2015. pp.69-81.

63. Zhuang C, Pannecouque C, De Clercq E, Chen F. Development of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs): our past twenty years. Acta Pharm Sin B. 2020 Jun; 10(6): 961-978.

64. Namasivayam V, Vanangamudi M, Kramer VG, Kurup S, Zhan P, Liu X, et al. The Journey of HIV-1 Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NNRTIs) from Lab to Clinic. J Med Chem. 2019 May 23; 62(10): 4851-4883.

65. Lansdon EB, Brendza KM, Hung M, Wang R, Mukund S, Jin D, et al. Crystal Structures of HIV-1 Reverse Transcriptase with Etravirine (TMC125) and Rilpivirine (TMC278): Implications for Drug Design. J Med Chem. 2010 May 27; 53(10): 4295-4299.

66. Gu S-X, Lu H-H, Liu G-Y, Ju X-L, Zhu Y-Y. Advances in diarylpyrimidines and related analogues as HIV-1 nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors. Eur J Med Chem. 2018 Oct; 158: 371-392.

67. Das K, Clark, AD, Lewi PJ, Heeres J, de Jonge MR, Koymans LMH, et al. Roles of Conformational and Positional Adaptability in Structure-Based Design of TMC125-R165335 (Etravirine) and Related Non-nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors That Are Highly Potent and Effective against Wild-Type and Drug-Resistant HIV-1 Variants. J Med Chem. 2004 May; 47(10): 2550-2560.

68. Côté B, Burch JD, Asante-Appiah E, Bayly C, Bédard L, Blouin M, et al. Discovery of MK-1439, an orally bioavailable non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor potent against a wide range of resistant mutant HIV viruses. Bioorg Med Chem Lett. 2014 Feb; 24(3): 917-922.

69. Feng M, Wang D, Grobler JA, Hazuda DJ, Miller MD, Lai M-T. *In Vitro* Resistance Selection with Doravirine (MK-1439), a Novel Nonnucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor with Distinct Mutation Development Pathways. Antimicrob Agents Chemother. 2015 Jan; 59(1): 590-598.

70. Tan S-L. Hepatitis C viruses: genomes and molecular biology. Wymondham: Horizon bioscience; 2006.

71. Reau N, Janardhan S. Should NS5A inhibitors serve as the scaffold for all-oral anti-HCV combination therapies? Hepatic Med Evid Res. 2015 Apr; 11.
72. Issur M, Götte M. Resistance Patterns Associated with HCV NS5A Inhibitors Provide Limited Insight into Drug Binding. Viruses. 2014 Nov 6; 6(11): 4227-4241.
73. Reghellin V, Donnici L, Fenu S, Berno V, Calabrese V, Pagani M, et al. NS5A Inhibitors Impair NS5A–Phosphatidylinositol 4-Kinase IIIα Complex Formation and Cause a Decrease of Phosphatidylinositol 4-Phosphate and Cholesterol Levels in Hepatitis C Virus-Associated Membranes. Antimicrob Agents Chemother. 2014 Dec; 58(12): 7128-7140.
74. Qiu D, Lemm JA, O'Boyle DR, Sun J-H, Nower PT, Nguyen V, et al. The effects of NS5A inhibitors on NS5A phosphorylation, polyprotein processing and localization. J Gen Virol. 2011 Nov 1; 92(11): 2502-2511.
75. Belema M, Lopez OD, Bender JA, Romine JL, St. Laurent DR, Langley DR, et al. Discovery and Development of Hepatitis C Virus NS5A Replication Complex Inhibitors. J Med Chem. 2014 Mar 13; 57(5): 1643-1672.
76. Guedj J, Dahari H, Rong L, Sansone ND, Nettles RE, Cotler SJ, et al. Modeling shows that the NS5A inhibitor daclatasvir has two modes of action and yields a shorter estimate of the hepatitis C virus half-life. Proc Natl Acad Sci. 2013 Mar 5; 110(10): 3991-3996.
77. McGivern DR, Masaki T, Williford S, Ingravallo P, Feng Z, Lahser F, et al. Kinetic Analyses Reveal Potent and Early Blockade of Hepatitis C Virus Assembly by NS5A Inhibitors. Gastroenterology. 2014 Aug; 147(2): 453-462.e7.
78. Romine JL, St. Laurent DR, Leet JE, Martin SW, Serrano-Wu MH, Yang F, et al. Inhibitors of HCV NS5A: From Iminothiazolidinones to Symmetrical Stilbenes. ACS Med Chem Lett. 2011 Mar 10; 2(3): 224-229.
79. Ramdas V, Talwar R, Banerjee M, Joshi AA, Das AK, Walke DS, et al. Discovery and Characterization of Potent Pan-Genotypic HCV NS5A Inhibitors Containing Novel Tricyclic Central Core Leading to Clinical Candidate. J Med Chem. 2019 Dec 12; 62(23): 10563-10582.
80. Link JO, Taylor JG, Xu L, Mitchell M, Guo H, Liu H, et al. Discovery of Ledipasvir (GS-5885): A Potent, Once-Daily Oral NS5A Inhibitor for the Treatment of Hepatitis C Virus Infection. J Med Chem. 2014 Mar 13; 57(5): 2033-2046.
81. Liu B, Gai K, Qin H, Liu X, Cao Y, Lu Q, et al. Design, synthesis and identification of silicon-containing HCV NS5A inhibitors with pan-genotype activity. Eur J Med Chem. 2018 Mar; 148: 95-105.

82. Ng TI, Krishnan P, Pilot-Matias T, Kati W, Schnell G, Beyer J, et al. *In Vitro* Antiviral Activity and Resistance Profile of the Next-Generation Hepatitis C Virus NS5A Inhibitor Pibrentasvir. Antimicrob Agents Chemother. 2017 May; 61(5).

83. O'Farrell D, Trowbridge R, Rowlands D, Jäger J. Substrate Complexes of Hepatitis C Virus RNA Polymerase (HC-J4): Structural Evidence for Nucleotide Import and De-novo Initiation. J Mol Biol. 2003 Feb; 326(4): 1025-1035.

84. Eltahla A, Luciani F, White P, Lloyd A, Bull R. Inhibitors of the Hepatitis C Virus Polymerase; Mode of Action and Resistance. Viruses. 2015 Sep 29; 7(10): 5206-5224.

85. Cho A. Evolution of HCV NS5B Nucleoside and Nucleotide Inhibitors. In: Sofia MJ, editor. HCV: The Journey from Discovery to a Cure. Cham: Springer International Publishing; 2019. pp.117-139.

86. Gentile I, Coppola N, Buonomo AR, Zappulo E, Borgia G. Investigational nucleoside and nucleotide polymerase inhibitors and their use in treating hepatitis C virus. Expert Opin Investig Drugs. 2014 Sep; 23(9): 1211-1223.

87. Sofia MJ, Bao D, Chang W, Du J, Nagarathnam D, Rachakonda S, et al. Discovery of a β- D -2′-Deoxy-2′-α-fluoro-2′-β- *C* -methyluridine Nucleotide Prodrug (PSI-7977) for the Treatment of Hepatitis C Virus. J Med Chem. 2010 Oct 14; 53(19): 7202-7218.

88. Akaberi D, Bergfors A, Kjellin M, Kameli N, Lidemalm L, Kolli B, et al. Baseline dasabuvir resistance in Hepatitis C virus from the genotypes 1, 2 and 3 and modeling of the NS5B-dasabuvir complex by the *in silico* approach. Infect Ecol Epidemiol. 2018 Jan; 8(1): 1528117.

89. Beaulieu PL. Non-nucleoside inhibitors of the HCV NS5B polymerase: progress in the discovery and development of novel agents for the treatment of HCV infections. Curr Opin Investig Drugs Lond Engl 2000. 2007 Aug; 8(8): 614-634.

90. Te HS, Randall G, Jensen DM. Mechanism of action of ribavirin in the treatment of chronic hepatitis C. Gastroenterol Hepatol. 2007 Mar; 3(3): 218-225.

91. Furuta Y, Gowen BB, Takahashi K, Shiraki K, Smee DF, Barnard DL. Favipiravir (T-705), a novel viral RNA polymerase inhibitor. Antiviral Res. 2013 Nov; 100(2): 446-454.

92. Agrawal U, Raju R, Udwadia ZF. Favipiravir: A new and emerging antiviral option in COVID-19. Med J Armed Forces India. 2020 Oct; 76(4): 370-376.

93. Aleissa MM, Silverman EA, Paredes Acosta LM, Nutt CT, Richterman A, Marty FM. New Perspectives on Antimicrobial Agents: Remdesivir Treatment for COVID-19. Antimicrob Agents Chemother. 2020 Dec 16; 65(1).

94. Eastman RT, Roth JS, Brimacombe KR, Simeonov A, Shen M, Patnaik S, et al. Remdesivir: A Review of Its Discovery and Development Leading to Emergency Use Authorization for Treatment of COVID-19. ACS Cent Sci. 2020 May 27; 6(5): 672-683.

95. Noshi T, Kitano M, Taniguchi K, Yamamoto A, Omoto S, Baba K, et al. In vitro characterization of baloxavir acid, a first-in-class cap-dependent endonuclease inhibitor of the influenza virus polymerase PA subunit. Antiviral Res. 2018 Dec; 160: 109-117.

96. Credille CV, Dick BL, Morrison CN, Stokes RW, Adamek RN, Wu NC, et al. Structure–Activity Relationships in Metal-Binding Pharmacophores for Influenza Endonuclease. J Med Chem. 2018 Nov 21; 61(22): 10206-10217.

97. McColl DJ, Chen X. Strand transfer inhibitors of HIV-1 integrase: Bringing IN a new era of antiretroviral therapy. Antiviral Res. 2010 Jan; 85(1): 101-118.

98. Hajimahdi Z, Zarghi A. Progress in HIV-1 Integrase Inhibitors: A Review of their Chemical Structure Diversity. Iran J Pharm Res IJPR. 2016; 15(4): 595-628.

99. Hughes DL. Review of Synthetic Routes and Final Forms of Integrase Inhibitors Dolutegravir, Cabotegravir, and Bictegravir. Org Process Res Dev. 2019 May 17; 23(5): 716-729.

100. Anderson J, Schiffer C, Lee S-K, Swanstrom R. Viral Protease Inhibitors. In: Kräusslich H-G, Bartenschlager R, editors. Antiviral Strategies. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2009. pp.85-110.

101. Schechter I, Berger A. On the size of the active site in proteases. I. Papain. Biochem Biophys Res Commun. 1967 Apr; 27(2): 157-162.

102. Wensing AMJ, van Maarseveen NM, Nijhuis M. Fifteen years of HIV Protease Inhibitors: raising the barrier to resistance. Antiviral Res. 2010 Jan; 85(1): 59-74.

103. Xu L, Liu H, Murray BP, Callebaut C, Lee MS, Hong A, et al. Cobicistat (GS-9350): A Potent and Selective Inhibitor of Human CYP3A as a Novel Pharmacoenhancer. ACS Med Chem Lett. 2010 Aug 12; 1(5): 209-213.

104. Belfrage AK, Uppsala universitet, Institutionen för läkemedelskemi. Design and Synthesis of Hepatitis C Virus NS3 Protease Inhibitors: Targeting Different Genotypes and Drug-Resistant Variants. [Uppsala]: Acta Universitatis Upsaliensis; 2015.

105. Leung D, Abbenante G, Fairlie DP. Protease Inhibitors: Current Status and Future Prospects. J Med Chem. 2000 Feb 1; 43(3): 305-341.

106. Narjes F, Brunetti M, Colarusso S, Gerlach B, Koch U, Biasiol G, et al. α-Ketoacids Are Potent Slow Binding Inhibitors of the Hepatitis C Virus NS3 Protease. Biochemistry. 2000 Feb 1; 39(7): 1849-1861.

107. Poliakov A, Johansson A, Åkerblom E, Oscarsson K, Samuelsson B, Hallberg A, et al. Structure–activity relationships for the selectivity of hepatitis C virus NS3 protease inhibitors. Biochim Biophys Acta BBA - Gen Subj. 2004 Apr; 1672(1): 51-59.

108. de Leuw P, Stephan C. Protease inhibitors for the treatment of hepatitis C virus infection. GMS Infect Dis 5 Doc08. 2017 Nov 28.

109. Moscona A. Neuraminidase Inhibitors for Influenza. N Engl J Med. 2005 Sep 29; 353(13): 1363-1373.

110. Russell RJ, Haire LF, Stevens DJ, Collins PJ, Lin YP, Blackburn GM, et al. The structure of H5N1 avian influenza neuraminidase suggests new opportunities for drug design. Nature. 2006 Sep; 443(7107): 45-49.

111. Park, Kichul, Sung, Nack Kyun. Importance of Accurate Charges in Binding Affinity Calculations: A Case of Neuraminidase Series. Bull Korean Chem Soc. 2013 Feb 20; 34(2): 545-548.

112. Kubo S, Tomozawa T, Kakuta M, Tokumitsu A, Yamashita M. Laninamivir Prodrug CS-8958, a Long-Acting Neuraminidase Inhibitor, Shows Superior Anti-Influenza Virus Activity after a Single Administration. Antimicrob Agents Chemother. 2010 Mar; 54(3): 1256-1264.

113. Koyama K, Nakai D, Takahashi M, Nakai N, Kobayashi N, Imai T, et al. Pharmacokinetic Mechanism Involved in the Prolonged High Retention of Laninamivir in Mouse Respiratory Tissues after Intranasal Administration of its Prodrug Laninamivir Octanoate. Drug Metab Dispos. 2013 Jan; 41(1): 180-187.

114. Koyama K, Ogura Y, Nakai D, Watanabe M, Munemasa T, Oofune Y, et al. Identification of Bioactivating Enzymes Involved in the Hydrolysis of Laninamivir Octanoate, a Long-Acting Neuraminidase Inhibitor, in Human Pulmonary Tissue. Drug Metab Dispos. 2014 Jun; 42(6): 1031-1038.

115. Chand P, Bantia S, Kotian PL, El-Kattan Y, Lin T-H, Babu YS. Comparison of the anti-influenza virus activity of cyclopentane derivatives with oseltamivir and zanamivir in vivo. Bioorg Med Chem. 2005 Jun; 13(12): 4071-4077.

116. Mishra V, Kashyap S, Hasija Y. Ligand based virtual screening for identifying potent inhibitors against viral neuraminidase: An in silico approach. J Taibah Univ Sci. 2015 Jan; 9(1): 20-26.

117. Vergara-Jaque A, Poblete H, Lee EH, Schulten K, González-Nilo F, Chipot C. Molecular Basis of Drug Resistance in A/H1N1 Virus. J Chem Inf Model. 2012 Oct 22; 52(10): 2650-2656.

118. Steinkühler C, Urbani A, Tomei L, Biasiol MS, Bianchi E, Pessi A, De Francesco R. Activity of Purified Hepatitis C Virus Protease NS3 on Peptide Substrates. J Virol. 1996b; 70: 6694–6700.

119. J O Koch , R Bartenschlager. Modulation of hepatitis C virus NS5A hyperphosphorylation by nonstructural proteins NS3, NS4A, and NS4B**.** J Virol. 1999 Sep; 73(9): 7138-7146.

120. Calvin J. Gordon, Egor P. Tchesnokov, Raymond F. Schinazi, and Matthias Götte. Molnupiravir promotes SARS-CoV-2 mutagenesis via the RNA template. J. Biol. Chem. 2021; 297(1) 100770.

121. Florian Kabinger , Carina Stiller , Jana Schmitzová, Christian Dienemann, Goran Kokic , Hauke S. Hillen , Claudia Höbartner and Patrick Cramer . Mechanism of molnupiravir-induced SARS-CoV-2 mutagenesis. Nature Structural & Molecular Biology. Vol 28; september 2021; 740-746.

122. Goran Kokic, Hauke S. Hillen, Dimitry Tegunov, Christian Dienemann, Florian Seitz, Jana Schmitzova, Lucas Farnung, Aaron Siewert, Claudia Höbartner & Patrick Cramer. Mechanism of SARS-CoV-2 polymerase stalling by remdesivir. Nature communication. (2021) 12: 279.

123. Boras B, Jones RM, Anson BJ., Arenson D, Aschenbrenner L., Bakowski MA, et al. Preclinical characterization of an intravenous coronavirus 3CL protease inhibitor for the potential treatment of COVID19. Nat Commun. 2021 Oct; 12(6055).

124. Woodley M (19 October 2021). “What is Australia’s potential new COVID treatment?”. The Royal Australian College of General Practitioners (RACGP). Retrieved 6 November 2021.

Chương 8

THUỐC KHÁNG KÝ SINH TRÙNG

Lý Nguyễn Hải Du

Các hoạt chất được đề cập

Tác nhân kháng ký sinh trùng sốt rét

Quinine	Dihydroartemisinin	Mefloquine
Quinidine	Chloroquine	Lumefantrine
Cinchonidine	Hydroxychloroquine	Halofantrine
Cinchonine	Amodiaquine	Sulfadoxine
Artemisinin	Piperaquine	Proguanil
Artemether	Pamaquine	Cycloguanil
Arteether	Primaquine	Pyrimethamine
Artesunate	Tafenoquine	Atovaquone

Tác nhân kháng Giardia

Nitazoxanide	Tinidazole	Metronidazole

Tác nhân kháng Trypanosoma

Nifurtimox	Eflornithine	Fexinidazole
Benznidazole	Melarsoprol	
Pentamidine	Natri suramin	

Tác nhân kháng Leishmania

Natri stibogluconate	Meglumine antimoniate	Miltefosine

Tác nhân kháng Toxoplasma

Pyrimethamine/sulfadoxine	Clindamycin	Spiramycin

Tác nhân kháng Trichomonas

Metronidazole	Tinidazole	Paromomycin

Tác nhân kháng giun sán

Mebendazole	Fenbendazole	Levamisole
Albendazole	Flubendazole	Ivermectin
Thiabendazole	Praziquantel	
Triclabendazole	Pyrantel pamoate	

1. GIỚI THIỆU CHUNG

Từ "quan hệ ký sinh" (parasitism) được ghép từ hai gốc từ Hy Lạp cổ παρά/*pará* (ở bên cạnh), và σῖτος/*sîtos* (ngũ cốc, bánh mì, thực phẩm), có thể hiểu theo nghĩa đen là quan hệ giữa hai cá thể sống khác loài, trong đó một cá thể (gọi là vật ký sinh – parasite) sẽ lấy dinh dưỡng và sinh trưởng trên cá thể còn lại (gọi là vật chủ – host), vốn không được lợi từ mối quan hệ này. Theo định nghĩa này, mọi tác nhân gây bệnh truyền nhiễm đều được gọi là ký sinh trùng (KST), tuy vậy, thuật ngữ này thường được dùng giới hạn trong ngành ký sinh trùng học (parasitology) để chỉ ba nhóm sinh vật gây bệnh ở người: động vật nguyên sinh (protozoa), giun sán (helminths) và động vật ký sinh ngoài (ectoparasites) [1].

Đến nay, các báo cáo ghi nhận loài người (*Homo sapiens*) là vật chủ của khoảng hơn 350 loài giun sán, 100 loài động vật nguyên sinh và gần 50 loài động vật ký sinh ngoài [2]. Phần lớn các loài này hiếm gặp và không gây bệnh, chỉ có khoảng 90 loài tương đối phổ biến và một phần nhỏ trong số này gây ra một số bệnh thuộc hàng nghiêm trọng nhất trên thế giới như sốt rét, bệnh ngủ Châu Phi. Các bệnh nhiễm ký sinh trùng rất phổ biến ở các vùng có khí hậu nhiệt đới, tuy nhiên cũng xảy ra ở các vùng cận nhiệt đới và ôn đới, do sự di dân và di chuyển của khách du lịch đến các vùng dịch tễ [3].

2. PHÂN LOẠI KÝ SINH TRÙNG [1]

Động vật nguyên sinh (protozoa)

Các sinh vật đơn bào này có thiên hướng lây nhiễm các bệnh nhân bị hội chứng suy giảm miễn dịch mắc phải (AIDS). Tình trạng nhiễm có thể biến đổi từ không có triệu chứng đến có thể gây tử vong. Các động vật nguyên sinh thường được phân loại thành các ngành (phylum) và dưới ngành (sub-phylum) dựa trên phương cách di chuyển chính yếu.

Sarcodina: sử dụng chân giả để di chuyển, bao gồm các amip như Entamoeba (gây lỵ, áp xe gan), Dientamoeba (gây viêm ruột), Naegleria và Acanthamoeba (gây loét giác mạc và hệ thần kinh trung ương).

Mastigophora: sử dụng nhung mao (flagella) để di chuyển, gồm Giardia (gây tiêu chảy), Trypanosoma (gây bệnh ngủ Châu Phi và bệnh Chagas), Leishmania (gây các nhiễm trùng phủ tạng, da, và da - niêm mạc) và Trichomonas (gây bệnh nhiễm đường sinh dục).

Apicomplexa: sử dụng một phức hợp ở đỉnh để di chuyển, gồm Babesia (gây bệnh nhiễm babesiosis), Plasmodium (gây sốt rét), Toxoplasma (gây bệnh nhiễm Toxoplasma), Isospora, Sarcocystis và Cryptosporidium (gây tiêu chảy).

Ciliphora: sử dụng tiêm mao để di chuyển, gồm Balantidium (gây lỵ).

Giun sán (helminths)

Thuật ngữ này nhằm chỉ các giun ký sinh. Nhiễm giun có thể xảy ra do sơ ý ăn phải, nhiễm qua thức ăn, giun chui qua da, bị vật truyền cắn. Việc nhiễm phụ thuộc rất nhiều vào khí hậu, vệ sinh, và phơi nhiễm với vật truyền. Giun được phân loại thành các ngành sau:

Sán lá (Trematodes – flatworms): hay còn gọi là giun dẹp, gây ra nhiều bệnh ở người. Các bệnh thường gặp gồm bệnh nhiễm sán máng (schistosomiasis), bệnh sán lá gan lớn (fascioliasis), bệnh sán lá phổi (clonorchiasis) và bệnh sán lá gan nhỏ (paragonimiasis).

Sán dải (Cestodes – tapeworms): còn được gọi là sán dây, gây ra các bệnh như bệnh sán dây (cysticercosis), bệnh sán dây nhỏ (echinococcosis - hydatid disease), bệnh sán dải cá (diphyllobothriasis) và bệnh sán dải lùn (hymenolepiasis).

Giun tròn (Nematodes – roundworms): gây ra nhiều loại bệnh cho người, có thể ở đường ruột hoặc tấn công trực tiếp vào các mô cụ thể. Nhiều giun tròn gây ra các bệnh trên ống tiêu hóa gồm giun đũa, giun đầu gai, giun lươn và giun xoắn. Các bệnh do giun tròn tấn công trực tiếp vào các mô bao gồm bệnh giun chỉ Loa Loa (loiasis), bệnh giun chỉ Onchocerca (onchocerciasis – bệnh mù sông, river blindness), bệnh giun chỉ bạch huyết (lymphatic filariasis) và bệnh giun đũa chó mèo Toxocara (toxocariasis).

Động vật ký sinh ngoài (Ectoparasites)

Các sinh vật này sống trên bề mặt da của vật chủ, như ve, bọ chét, chấy rận và bọ giường. Các sinh vật này làm ổ trên da, gây ngứa ngáy nhiều. Bệnh gây bởi động vật ký sinh ngoài gồm bệnh dòi (myiasis), chấy rận (pediculosis), ghẻ (scabies) và sốt mò (trombiculosis).

3. TỔNG QUAN VỀ CÁC TÁC NHÂN KHÁNG KÝ SINH TRÙNG Ở NGƯỜI

Trong khi nhiều tác nhân có tác dụng trên nhiều nhóm ký sinh trùng, một số khác chỉ tác động riêng biệt trên một số loài ký sinh trùng. Cơ chế tác động của các tác nhân kháng ký sinh trùng cũng đa dạng. Phần 3 trình bày ngắn gọn các tác nhân được sử dụng trong điều trị các bệnh nhiễm ký sinh trùng, riêng các tác nhân kháng ký sinh trùng sốt rét được trình bày trong phần 4.

3.1. Tác nhân kháng các động vật nguyên sinh (antiprotozoal agents)

Nhiều tác nhân có phổ tác động rộng, trên nhiều nhóm bệnh, một số tác nhân khác lại chỉ khu trú trên một số ký sinh trùng chuyên biệt.

Bảng 8.1. Tác nhân kháng động vật nguyên sinh theo bệnh nhiễm

STT	Bệnh nhiễm	Các tác nhân điều trị
1	Babesiosis [4] (nhiễm *Babesia* spp.)	Nhẹ và trung bình: phối hợp atovaquone và azithromycin/clindamycin. Nặng: phối hợp ở trên cùng với quinine.
2	Amoebiasis [5] (nhiễm *Entamoeba hystolytica*)	Có thể không có triệu chứng hoặc gây viêm ruột, hoặc các triệu chứng ngoài ống tiêu hóa. Tại chỗ (lòng ruột): iodoquinol, paromomycin sulfate và diloxanide furoate. Hệ thống: **nitroimidazole**, emetine (và dẫn chất dehydroemetin), chloroquine.
3	Giardiasis [5] (nhiễm *Giardia lamblia*)	Được FDA chuẩn thuận: nitroimidazole (**tinidazole**), thiazole (**nitazoxanide**). Có hiệu quả nhưng không được FDA chuẩn thuận: nitroimidazole (metronidazole, secnidazole, ornidazole), benzimidazole (albendazole và mebendazole), aminoglycoside (paromomycin), nitrofuran (furazolidone), quinacrine (hiện không còn được sử dụng).
4	Trypanosomiasis [5,6] (nhiễm *Trypanosoma* spp.)	*Trypanosoma cruzi* (bệnh Chagas/American trypanosomiasis): nifurtimox, benznidazole. *Trypanosoma brucei* gây ra bệnh ngủ Châu Phi. - *T. brucei gambiense* (ở Tây Phi): pentamidine (giai đoạn sớm) và eflornithine/melarsoprol (giai đoạn muộn). - *T. brucei rhodesiense* (ở Đông Phi): natri suramin (giai đoạn sớm), melarsoprol (giai đoạn muộn). Fexinidazole (được FDA chuẩn thuận năm 2021) cho cả hai giai đoạn của *T. brucei gambiense,* hiện tiếp tục nghiên cứu trên *T. brucei rhodesiense.* Điều trị tái phát: nifurtimox + melarsoprol/eflornithine.

STT	Bệnh nhiễm	Các tác nhân điều trị
5	Leishmaniasis [7,8] (nhiễm *Leishmania* spp.)	Biểu hiện ở nội tạng, da, niêm. Ưu tiên: natri stibogluconate, meglumine antimoniate, amphotericine B, **miltefosine**. Thay thế: paromomycin, pentamidine. Miltefosine là tác nhân dùng đường uống duy nhất được FDA chấp thuận điều trị leishmaniasis.
6	Toxoplasmosis [9] (nhiễm *Toxoplasma gondii*)	Thường hay gặp ở các bệnh nhân suy giảm miễn dịch, gây các triệu chứng trên thần kinh. Ưu tiên: phối hợp pyrimethamine + sulfadiazine/ sulfamerazine/sulfadimidine/sulfapyrazine. Có thể thay sulfadiazine bằng clindamycin/azithromycin nếu bệnh nhân không dung nạp sulfonamide. Các lựa chọn thay thế: - Phối hợp trisulfapyrimidine (sulfadiazine + sulfamerazine + sulfadimidine). - Phối hợp trimetoprim và sulfamethoxazole (TMP/ SMX). - Atovaquone có thể sử dụng đơn độc hoặc phối hợp với pyrimethamine/sulfadiazine hoặc với TMP/SMX. Folinic acid (leuvocorin) được dùng như chất giải độc cho các phác đồ có sử dụng pyrimethamine.
7	Trichomoniasis [5] (nhiễm *Trichomonas vaginalis*)	Gây viêm nhiễm âm đạo. Toàn thân: **metronidazole**, tinidazole (kém hiệu quả). Tại chỗ: paromomycin (kém hiệu quả).

3.2. Tác nhân kháng giun sán (antihelminthic agents)

Các thuốc kháng giun sán được phân thành nhóm các tác nhân diệt giun sán (vermicides) và các tác nhân tẩy giun (vermifuges). Các thuốc diệt giun tiêu diệt các mầm giun sán, còn các tác nhân tẩy giun lại giúp đẩy giun sán, chủ yếu là ở trạng thái sống, ra khỏi cơ thể nhờ vào nhu động ruột [5]. Thuốc trừ giun sán lý tưởng nên có khoảng trị liệu rộng, nhằm đảm bảo gây độc tối đa cho giun sán và có ảnh hưởng tối thiểu lên vật chủ. Ngoài ra còn có thể phân các tác nhân kháng giun sán theo nhóm bệnh nhiễm hoặc theo cấu trúc hóa học.

Bảng 8.2. Tác nhân kháng giun sán theo nhóm bệnh nhiễm [5]

STT	Bệnh nhiễm	Hoạt chất
1	Giun dẹp/sán dải/sán dây (cestodes)	Ưu tiên: **praziquantel**, dẫn chất benzimidazole (ưu tiên hàng đầu là albendazole, lựa chọn thay thế là mebendazole); Thay thế: niclosamide.
2	Sán lá (trematodes-flukes)	Ưu tiên: **praziquantel**, triclabendazole (dẫn chất benzimidazole). Thay thế: metrifonate, oxamniquine, bithionol.
3	Giun tròn (nematodes)	- Dẫn chất benzimidazole được ưu tiên trong kiểm soát bệnh nhiễm gây ra bởi giun tròn, như giun đũa (ascariasis), giun xoắn (trichinosis), giun tóc (trichuriasis-whipworm), giun móc (ancylostomiasis-hookworm), giun kim (enterobiasis-pinworm) và bệnh ấu trùng di chuyển ở da (cutaneous larva migrans); **albendazole**, mebendazole, thiabendazole (ít sử dụng do nhiều tác dụng không mong muốn). - Pyrantel pamoate có thể thay thế các dẫn chất benzimidazole, nhưng không có hiệu quả trên giun tóc và bệnh ấu trùng di chuyển ở da. - Diethylcarbamazine: ưu tiên sử dụng trong điều trị bệnh giun chỉ bạch huyết (lymphatic filariasis), bệnh phổi tăng bạch cầu ái toan vùng nhiệt đới (tropical pulmonary eosinophilia), cả hai nhóm bệnh này đều gây ra bởi ba loài thuộc họ Filariodidea - *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi*, *Brugia timori*, hoặc bệnh nhiễm giun chỉ Loa Loa (loiasis). - Ivermectin: ưu tiên sử dụng trong điều trị bệnh mù sông gây ra bởi giun chỉ *Onchocerca volvulus* và nhiễm giun lươn *Strongyloides stercoralis.*

3.3. Tác nhân kháng động vật ký sinh ngoài (Ectoparasiticides)

Các động vật ký sinh ngoài gây bệnh phổ biến ở người gồm chấy, rận ký sinh ở đầu (head lice), hoặc vùng sinh dục (pubic lice) và cái ghẻ (scabies mites).

Bảng 8.3. Tác nhân kháng động vật ký sinh ngoài theo bệnh nhiễm [10]

STT	Bệnh nhiễm	Hoạt chất
1	Cái ghẻ	Lindane, permethrin, benzyl benzoate, ivermectin, pyrethrin.
2	Chấy, rận	Permethrin, pyrethrin, malathion và ivermectin.

4. CÁC TÁC NHÂN KHÁNG KÝ SINH TRÙNG SỐT RÉT

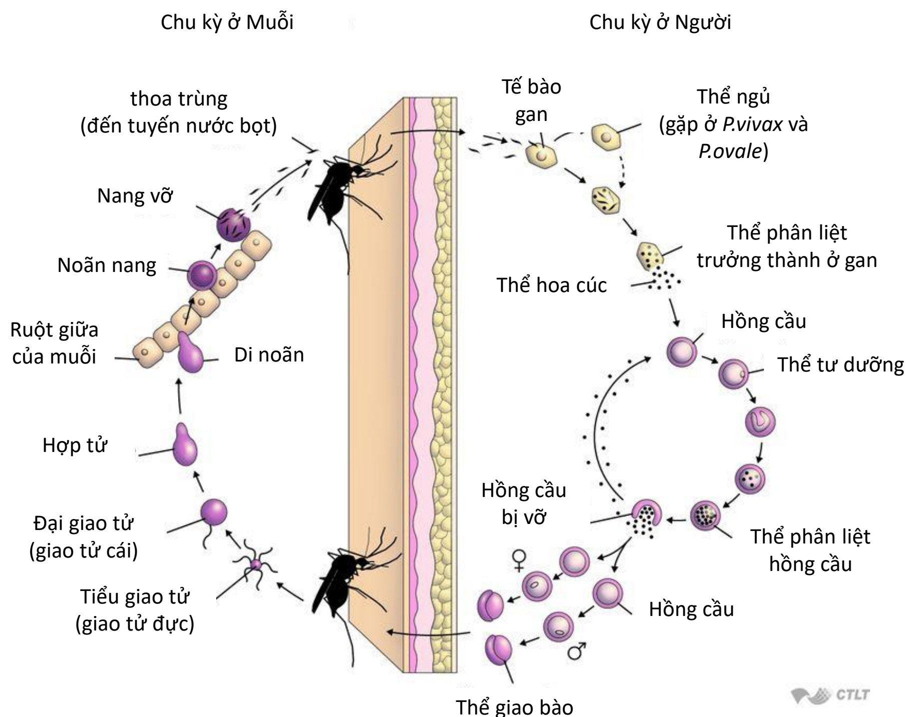
4.1. Giới thiệu

Năm 2019, thế giới ghi nhận gần 230 triệu ca sốt rét cấp tính và hơn 400 nghìn người tử vong, trong đó 2/3 số ca tử vong là trẻ em dưới 5 tuổi [11]. KST sốt rét là một sinh vật đơn bào, thuộc cận lớp (subclass) trùng bào tử (sporozoan). KST sốt rét có chu kỳ sống phức tạp, chúng tồn tại ở nhiều dạng khác nhau, thực hiện sinh sản vô tính trong ký chủ động vật, sau đó chuyển từ ký chủ sang một côn trùng gây lây nhiễm (insect vector), muỗi cái *Anopheles* spp., để thực hiện quá trình sinh sản hữu tính.

Đến nay, y văn ghi nhận khoảng hơn 200 loài Plasmodium, trong đó 5 loài gây ra sốt rét ở người gồm *Plasmodium falciparum, P. vivax, P. ovale, P. malariae* và *P. knowlesi*. 4 loài đầu gây nhiễm chuyên biệt ở người, riêng *P. knowlesi* có ký chủ tự nhiên là khỉ macaque (*Macaca fascicularis)*, gây sốt rét truyền từ động vật sang người (zoonotic malaria infection) và có vùng dịch tễ khu trú tại Đông Nam Á [12].

P. falciparum chiếm tỷ lệ ưu thế trong các ca nhiễm và gây sốt rét ác tính biến chứng, biểu hiện với thiếu máu tiêu huyết, bệnh não (sốt rét ác tính thể não), có thể gây tử vong (hơn 90% các trường hợp tử vong là do *P. falciparum*). Các loài còn lại gây bệnh ít nghiêm trọng hơn, tuy nhiên *P. vivax*, *P. ovale* có thể gây ra sốt rét tái phát [12].

4.2. Chu trình phát triển của ký sinh trùng sốt rét



Hình 8.1. Vòng đời của ký sinh trùng sốt rét (http://www.malariasite.com/life-cycle/)

KST sốt rét phát triển trong cơ thể người qua hai giai đoạn [12]:

- Giai đoạn ngoại hồng cầu:

Muỗi cái *Anopheles* spp. bị nhiễm KST sốt rét chích người lành sẽ truyền **thoa trùng** sốt rét từ tuyến nước bọt qua cơ thể người. Thoa trùng theo máu về tế bào gan, tại đây phát triển thành **thể phân liệt mô** (giai đoạn này kéo dài 5-16 ngày, tùy theo loài *Plasmodium*).

+ Đối với *P. falciparum, P. malariae*: các thể phân liệt sẽ tiếp tục phát triển chứ không tạo thể ngủ, nên không gây ra tình trạng sốt rét tái phát. Các thuốc diệt được hết ký sinh trùng trong máu thì bệnh nhân sẽ khỏi bệnh.

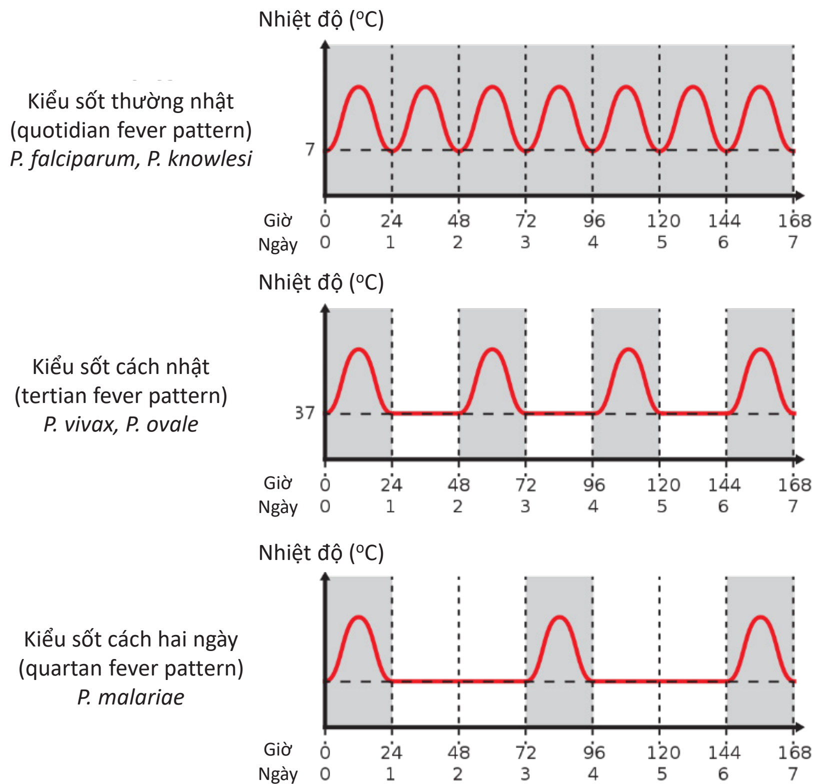
+ Đối với *P. vivax* và *P. ovale*: ngoài phát triển thành thể phân liệt mô, một số thoa trùng có thể phát triển thành các **thể ngủ**. Các thể này tồn tại và sinh sản trong thời gian dài (có thể kéo dài từ vài tháng đến vài năm) tại tế bào gan và trở lại thành thể phân liệt mô vào một thời điểm thuận lợi, nên gây ra tình trạng sốt rét tái phát. Do vậy, với hai loài ký sinh trùng này cần phải tiêu diệt cả thể ngủ trong tế bào gan để điều trị dứt điểm tình trạng sốt rét cho bệnh nhân.

- Giai đoạn hồng cầu:

Thể phân liệt mô rời tế bào gan, xâm nhập vào hồng cầu, phát triển theo hai hướng:

+ **Thể vô tính**: chỉ sinh sản vô tính, tạo thành các **thể tư dưỡng**, phát triển thành **thể phân liệt hồng cầu**. Số lượng thể phân liệt hồng cầu tăng lên nhiều sẽ làm vỡ tế bào hồng cầu, phóng thích các tiểu thể tư dưỡng tự do, biểu hiện trên lâm sàng khi hồng cầu vỡ là các cơn sốt. Các tiểu thể tư dưỡng vừa được phóng thích sẽ lây nhiễm cho các tế bào hồng cầu khác.

Mỗi cơn sốt ứng với một chu kì vô tính trong hồng cầu, thời gian khác nhau tùy theo chủng loại KST sốt rét bị nhiễm. Kiểu cơn sốt cách **48 giờ** (tertian fever), hay kiểu cơn sốt cách nhật gặp khi bị nhiễm *P. falciparum* hoặc *P. vivax*; Kiểu cơn sốt cách **72 giờ** (quartan fever), nghĩa là cơn sốt xảy ra mỗi 3 ngày gặp khi bị nhiễm *P. malariae*. Đối với *P. falciparum*, thường gặp cơn sốt xảy ra **hàng ngày** (quotidian fever), tức cơn sốt xảy ra mỗi 24 giờ khi có hai lứa ký sinh trùng trở lên phát triển so le, không đồng nhịp. Ngoài ra cơn sốt thường nhật cũng xảy ra khi nhiễm *P. knowlesi.*



Hình 8.2. Chu kỳ lên cơn sốt khi nhiễm các loài KST sốt rét (https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Fever_Patterns_v1.1.svg)

+ **Thể hữu tính:** còn gọi là **thể giao bào**, không gây sốt nhưng gây lây lan bệnh sốt rét. Giao bào đực và giao bào cái không phân chia. Khi muỗi cái *Anopheles* spp. chích người bệnh, các giao bào theo máu vào cơ thể muỗi cái, phát triển thành đại giao tử (giao tử cái) và tiểu giao tử (giao tử đực). Các giao tử này kết hợp trong ruột muỗi cái tạo thành hợp tử. Hợp tử này phát triển thành một di noãn, chui qua mặt ngoài thành dạ dày muỗi, phát triển thành noãn nang mang nhiều **thoa trùng** (chu trình bào tử sinh). Các noãn nang này vỡ sẽ phóng thích nhiều thoa trùng, di chuyển đến cư trú ở tuyến nước bọt của muỗi cái. Khi muỗi chích người lành, các thoa trùng được truyền vào vật chủ mới tiếp tục vòng đời sốt rét.

4.3. Phân loại các tác nhân kháng ký sinh trùng sốt rét

Các tác nhân kháng KST sốt rét có thể được phân loại theo tác dụng dược lý hoặc theo nguồn gốc và cấu trúc hóa học [13].

4.3.1. Phân loại theo tác dụng dược lý

Các tác nhân kháng KST sốt rét có thể tác động lên các giai đoạn khác nhau trong chu trình sống của *Plasmodium* spp. và có thể được phân thành các nhóm sau:

- **Các tác nhân diệt thể phân liệt tại mô gan** (tissue schizonticides) ngăn sự xâm nhiễm của KST vào hồng cầu, chặn sự diễn tiến của bệnh, được sử dụng như các tác nhân dự phòng căn nguyên (causal prophylaxis). Nhóm này gồm primaquine, tafenoquine, pyrimethamine/sulfadoxine, proguanil/atovaquone (malarone). Tuy nhiên, do tình hình đề kháng nên pyrimethamine/sulfadoxine hiện không được sử dụng.

- **Các tác nhân diệt thể ngủ** (hypnozoiticides) của *P. vivax* và *P. ovale* tại gan ngăn ngừa sốt rét tái phát, gồm các dẫn chất 8-aminoquinoline như primaquine và tafenoquine.

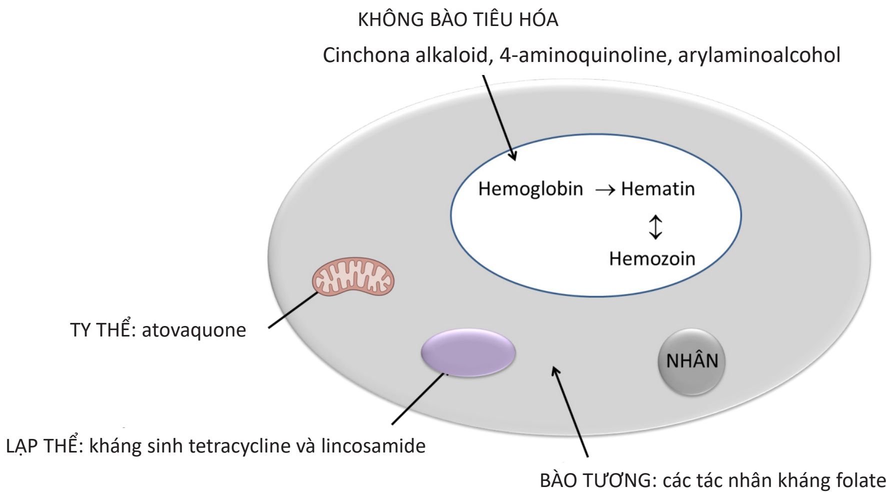
- Các tác nhân diệt thể phân liệt tại hồng cầu (blood schizonticides) ức chế sự sinh sản vô tính của KST, ngăn sự vỡ hồng cầu hàng loạt, hoặc ở giai đoạn sớm có tác động dự phòng ức chế (suppressive prophylaxis), hoặc ở giai đoạn muộn có tác động cắt cơn sốt trên lâm sàng (điều trị về mặt lâm sàng – clinical cure). Phần lớn các tác nhân kháng sốt rét tác động trên giai đoạn hồng cầu của ký sinh trùng và có thể chia thành các nhóm:

+ Nhóm tác động nhanh, hiệu lực cao: gồm các dẫn chất 4-aminoquinoline (các cinchona alkaloid, chloroquine), arylaminoalcohol (mefloquine, halofantrine) và sesquisterpen lactone (arteminsinine và dẫn chất).

+ Nhóm tác động chậm, hiệu lực thấp: gồm các tác nhân kháng chuyển hóa (antimetabolites) như kháng folate (sulfonamide, pyrimethamine, proguanil), napthoquinone (atovaquone) và các kháng sinh (hai nhóm chính là tetracycline và macrolide).

- **Các tác nhân diệt thể giao bào** (gametocytocides) tác động trên dạng sinh sản hữu tính trong máu của KST, ngăn KST truyền từ người bệnh sang vector truyền bệnh (muỗi *Anopheles* spp.). Phần lớn các tác nhân diệt thể phân liệt tại hồng cầu cũng có tác động diệt thể giao bào, tuy nhiên các tác nhân này không có tác động trên giao bào của *P. falciparum*. Primaquine có tác động diệt giao bào của tất cả các loài Plasmodium.

- **Các tác nhân diệt thoa trùng** (sporontocides) ức chế sự phát triển của các noãn nang chứa thoa trùng trong cơ thể muỗi cái *Anopheles* spp., cắt đứt chuỗi truyền nhiễm từ muỗi sang người. Primaquine, proguanil và pyrimethamine có tác động này, tuy nhiên các tác nhân kháng sốt rét không được sử dụng riêng lẻ cho tác động này trên lâm sàng.



Hình 8.3. Vị trí tác động của các tác nhân tác động trên giai đoạn hồng cầu của KST sốt rét

Bảng 8.4. Vai trò của các tác nhân kháng KST sốt rét trên lâm sàng [13]

Điều trị	Nhóm dược lý	Tác nhân sử dụng
Dự phòng căn nguyên (causal prophylaxis)	Tác nhân diệt thể phân liệt tại gan	Primaquine, tafenoquine, proguanil/ atovaquone. Dùng 1 - 2 ngày trước khi vào vùng dịch tễ sốt rét lưu hành, trong thời gian lưu lại và 1 tuần sau khi rời đi.
Dự phòng ức chế (suppressive prophylaxis)	Tác nhân diệt thể phân liệt tại hồng cầu	Hiện chỉ sử dụng chloroquine, mefloquine, doxycyclin. Cần dùng trước khi vào vùng sốt rét lưu hành (1 - 2 tuần với chloroquine, 2 - 3 tuần với mefloquine và 1 - 2 ngày với doxycycline), trong thời gian lưu lại và 4 tuần sau khi rời đi.
Điều trị triệu chứng (clinical cure)	Tác nhân diệt thể phân liệt tại hồng cầu	Thường dùng các tác nhân thuộc nhóm tác động nhanh, hiệu lực cao.
Điều trị triệt để (radical cure)	Tác nhân diệt thể phân liệt tại hồng cầu + Tác nhân diệt thể ngủ tại gan	Với các loài *P. falciparum, P. malairae, P. knowlesi* chỉ cần sử dụng các tác nhân diệt thể phân liệt tại hồng cầu. Với *P. vivax* và *P. ovale* cần sử dụng thêm tác nhân diệt thể ngủ tại gan.

4.3.2. Phân loại theo nguồn gốc và cấu trúc hóa học

Các tác nhân kháng ký sinh trùng sốt rét có thể được phân thành hai nhóm dựa theo nguồn gốc:

Nguồn gốc tự nhiên:

- Các cinchona alkaloid gồm quinine, quinidine, cinchonine, cinchonidine và các dẫn chất, tuy nhiên chỉ quinine được sử dụng thường quy trên trên lâm sàng.

- Các sesquiterpen lactone gồm artemisinin và các dẫn chất.

- Các kháng sinh họ cycline và lincosamide, hiện sử dụng tetracycline, doxycycline và clindamycin trên lâm sàng.

Nguồn gốc tổng hợp:

- Dẫn chất 4-aminoquinoline gồm chloroquine, hydroxychloroquine, amodiaquine, piperaquine hiện được sử dụng trên lâm sàng; pyronaridine, ferroquine, naphthoquine vẫn còn trong giai đoạn thử nghiệm lâm sàng.

- Dẫn chất 8-aminoquinoline gồm primaquine và tafenoquine đang được sử dụng trên lâm sàng, plasmaquine (pamaquine), pentaquine, quinocide và bulaquine hiện không còn được sử dụng.

- Dẫn chất arylaminoalcohol gồm mefloquine, lumefantrine và halofantrine.

- Tác nhân kháng folate gồm sulfonamide, sulfone (dapson), các dẫn chất biguanide (proguanil, cycloguanil) và diaminopyrimidine (pyrimethamine).

- Dẫn chất 1,4-naphthoquinone chỉ có atovaquone được sử dụng.

4.4. Các thuốc điều trị sốt rét chính

4.4.1. Cinchona alkaloid

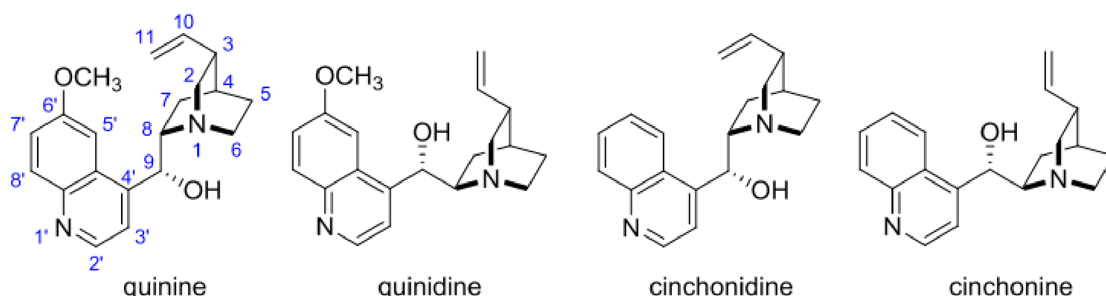
Vỏ các cây thuộc chi Cinchona (*Cinchona* spp.) được sử dụng điều trị sốt rét đầu tiên vào khoảng năm 1630. Thổ dân Nam Mỹ thoạt đầu dùng chúng để giảm những cơn rét run khi bơi qua các dòng nước lạnh do tin rằng dược liệu này giúp cho sự tuần hoàn. Từ công dụng này, họ tin rằng vỏ cây Cinchona cũng có thể giảm được những cơn rét run gây ra bởi sốt rét. Những giáo sĩ dòng Tên Tây Ban Nha đã đem phát kiến này về châu Âu, vốn đang bị dịch sốt rét hoành hành tại thời điểm ấy. Dịch chiết vỏ cây Cinchona được sử dụng để điều trị sốt rét đến thế kỷ XIX [14].

Quinine được chiết xuất từ vỏ cây Cinchona lần đầu vào năm 1820, nhưng đến tận năm 1826 tác nhân này mới được sản xuất ở quy mô công nghiệp [15]. Tuy vậy đến

khoảng năm 1880, KST sốt rét mới được phát hiện do quan sát dưới kính hiển vi và một thời gian ngắn sau đó tác động của quinine trên KST được phát hiện. Cấu trúc của quinine chỉ được sáng tỏ vào năm 1944 [16].

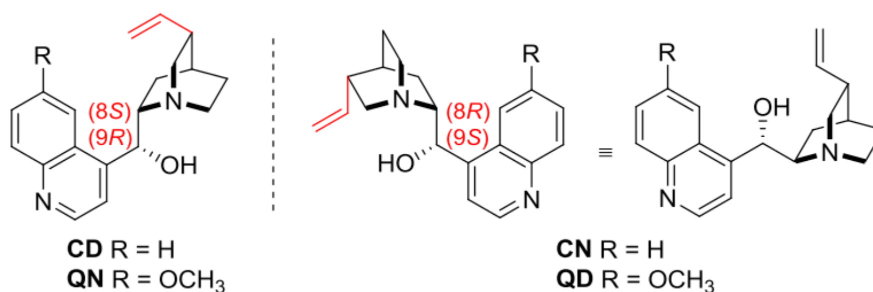
Quinine (**QN**) cùng ba alkaloid khác mang khung quinoline khác - quinidine (**QD**), cinchonidine (**CD**) và cinchonine (**CN**) có thể chiếm đến 16% khối lượng khô của vỏ cây Cinchona và là số ít các cinchona alkaloid được chiết xuất ở quy mô công nghiệp [17]. Cấu trúc và cách đánh số nguyên tử các alkaloid này được trình bày trong Hình 8.4 [18].

Cả bốn dẫn chất này đều được báo cáo là có tác động kháng ký sinh trùng sốt rét trên lâm sàng. Do chiếm tỷ lệ lớn trong tự nhiên, quinine được xem là lựa chọn chính trong điều trị sốt rét mặc dù chỉ số trị liệu (therapeutic index) thấp và gây nhiều tác động không mong muốn. Trong khi đó, quinidine, đồng phân của quinine, chỉ được sử dụng cho các bệnh nhân sốt rét nghiêm trọng (dạng quinidine gluconate tiêm truyền) mà ít được sử dụng như một tác nhân kháng ký sinh trùng sốt rét thường quy do tác động trên nhịp tim (đến giữa thế kỷ XX, quinidine vẫn được sử dụng như một thuốc điều trị loạn nhịp thường quy) [19,20].



Hình 8.4. Cách đánh số và cấu trúc của các cinchona alkaloid

Cấu trúc của các cinchona alkaloid gồm ba đơn vị cấu trúc khá độc lập: vòng thơm quinoline (6-methoxyquinoline), nhân quinuclidine có mang nhóm thế vinyl và một cầu nối hydroxymethylene nối hai đơn vị cấu trúc trên. Cấu trúc tồn tại năm trung tâm lập thể (stereogenic centers) ở N1, C3, C4, C8 và C9, trong đó N1 và C4 phụ thuộc lẫn nhau. Các cinchona alkaloid có cùng cấu dạng ở vị trí 1, 3 và 4 (1*S*,3*R*,4*S*) nhưng hai trung tâm bất đối C8 và C9 có cấu dạng đối nghịch nhau ở cặp QN (8*S*,9*R*) – QD (8*R*,9*S*) và CD (8*S*,9*R*) – CN (8*R*,9*S*), vì thế hai cặp đồng phân dia - xuyên lập thể phân (diastereomers) này thường được gọi là các cặp đồng phân giả đối quang (pseudoenantiomers) (Hình 8.5) [21]. Các đặc tính cấu trúc lập thể đặc biệt này khiến cho các cinchona alkaloid hiện được sử dụng như các chất xúc tác hữu cơ trong phản ứng tổng hợp các hợp chất bất đối [22].



Hình 8.5. Mối tương quan giữa các cặp đồng phân giả đối quang cinchonidine (-) và cinchonine (+), quinine (-) và quinidine (+)

Trong các nghiên cứu *in vitro* cũng như trên lâm sàng, (+)-quinidine có tiềm lực cao hơn từ 2 đến 4 lần so với (-)-quinine và (+)-cinchonine cũng mạnh hơn (-)-cinchonidine khoảng 3 lần [23,24]. Kết quả này cho thấy hoạt tính của các đồng phân hữu triền tốt hơn dạng tả triền với các cinchona alkaloid.

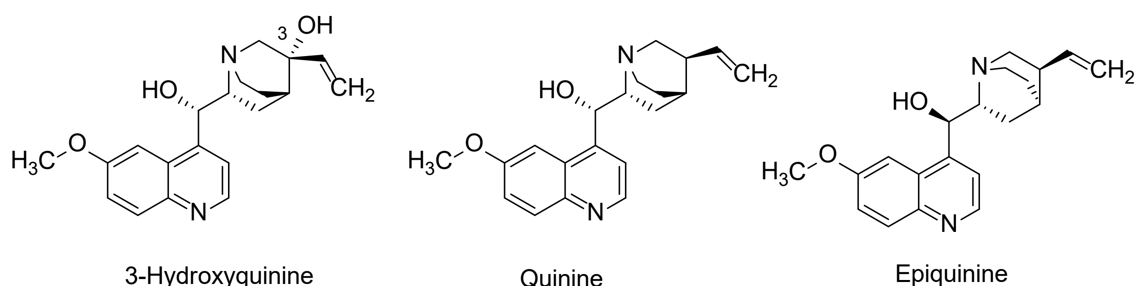
Cơ chế tác động:

Còn nhiều tranh cãi về cơ chế tác động của các cinchona akaloid. Một số nghiên cứu cho rằng chúng tác động tương tự như chloroquine, tức ức chế sự hình thành hemozoin tại không bào tiêu hóa (digestive vacuoles) của ký sinh trùng, khiến heme bị tích tụ gây ngộ độc cho ký sinh trùng (xem thêm cơ chế tác động của các dẫn chất 8-aminoquinoline) [25]. Tuy nhiên, các cinchona alkaloid là các base yếu (pK_{a1} = 8.58, pK_{a2} = 4.12) so với chloroquine (pK_{a1} = 10.18, pK_{a2} = 8.38) [26], nên khả năng tích tụ trong môi trường acid của không bào tiêu hóa kém hơn so với chloroquine theo con đường bẫy ion [27].

Ngoài ra, một số nghiên cứu đề xuất các cinchona alkaloid tác động trên màng phospholipid, ngăn chặn sự hòa màng của các túi vận chuyển hemoglobin để tạo thành các không bào tiêu hóa, hoặc ức chế sự tái sử dụng màng bởi các không bào tiêu hóa [28].

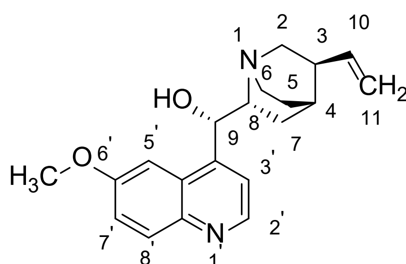
Dược động học:

Cả quinine và quinidine có thể được dùng theo đường uống hoặc đường tiêm tĩnh mạch, nhưng có chỉ số trị liệu thấp [25]. Dạng muối hydrochloride, dihydrochloride và gluconate của quinine tan tốt trong nước trên có thể dùng theo đường tiêm tĩnh mạch, dạng muối sulfate và bisulfate thường được bào chế dưới dạng viên nén. Quinidine gluconate dạng tiêm truyền chỉ được chỉ định cho các tình trạng sốt rét ác tính biến chứng [20]. Chất chuyển hóa chính của quinine là 3-hydroxyquinine, và chỉ khoảng 20% quinine được đào thải dạng nguyên vẹn qua nước tiểu [29]. Thời gian bán thải của quinine tăng từ 15 giờ ở bệnh nhân sốt rét không biến chứng lên 20 giờ ở bệnh nhân bị sốt rét nặng [30].



Hình 8.6. Chất chuyển hóa 3-hydroxyquinine và đồng phân epimer của quinine

Liên quan cấu trúc - tác động:



Hình 8.7. Khung cấu trúc của quinine

Nhân quinoline cần thiết, nhưng nhóm thế 6'-methoxy dường như không cần thiết, vì cinchonine và cinchonidine vẫn có tác động kháng sốt rét [25].

Một nhóm amine bậc 3 có cấu trúc cứng như nhân quinuclidine là cần thiết, nhưng nhóm thế vinyl ở nhánh bên không cần thiết cho hoạt tính kháng sốt rét [31].

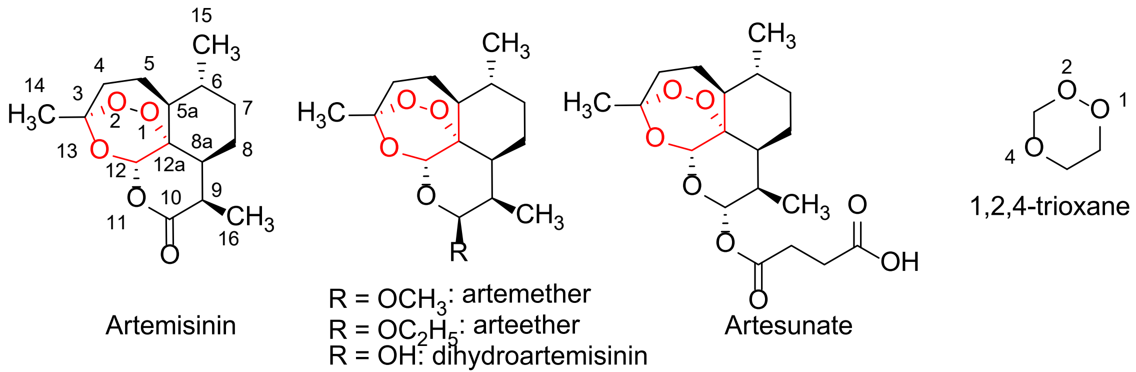
Một nhóm alcohol bậc 2 ở vị trí số 9 cần cho tác động kháng sốt rét [30]. Hóa lập thể của vị trí C9 cũng có vai trò quan trọng, do quinidine (9*S*) có tác động kháng sốt rét tốt hơn quinine (9*R*) và các đồng phân epimer của quinine và quinidine có tác động kháng sốt rét giảm từ 10-100 lần [30].

4.4.2. Dẫn chất sesquisterpen lactone

Artemisinin được phát hiện vào năm 1972 từ dịch chiết của cây Thanh hao hoa vàng (*Artemisia annua*), giúp tăng thêm sự lựa chọn trong điều trị sốt rét. Tuy nhiên, Thanh hao hoa vàng đã được sử dụng để điều trị sốt rét từ hơn 2000 năm trước ở Trung Quốc [32].

Phân tử này dễ kết tinh từ dịch chiết, rất kém tan trong cả nước và dầu, do đó artemisinin chỉ được sử dụng theo đường uống và đường đặt trực tràng [33], có sinh khả dụng kém và thời gian bán thải rất ngắn (thời gian bán thải ở người khỏe mạnh dùng theo đường uống khoảng 2 - 5 giờ) dù rất hiệu quả đối với ký sinh trùng sốt rét (IC_{50} với các dòng *P. falciparum* khác nhau từ 10 - 100 nM) [34,35].

Sự biến đổi hóa học ở vị trí C10 tạo ra một loạt các dẫn chất bán tổng hợp của artemisinin có tính tan trong dầu và nước được cải thiện, từ đó tăng sinh khả dụng đường uống, cũng như có thể sử dụng theo đường tiêm (tiêm bắp hoặc tiêm tĩnh mạch). Tuy vậy, các dẫn chất chất này vẫn có thời gian tác động ngắn (arteether có thời gian bán thải dài nhất cũng chỉ kéo dài khoảng 20 giờ) [34,35]. Trên lâm sàng, các dẫn chất này không được sử dụng riêng lẻ mà phải phối hợp với các tác nhân kháng sốt rét khác có tác động dài hơn để tránh sự đề kháng. Bảng 5 đề ra một số trị liệu phối hợp dựa trên artemisinin (ACT - Artemisinin-based combination therapies) được khuyến nghị bởi Tổ chức Y tế Thế giới [36].



Hình 8.8. Artemisinin và các dẫn chất được biến đổi hóa học tại vị trí C10

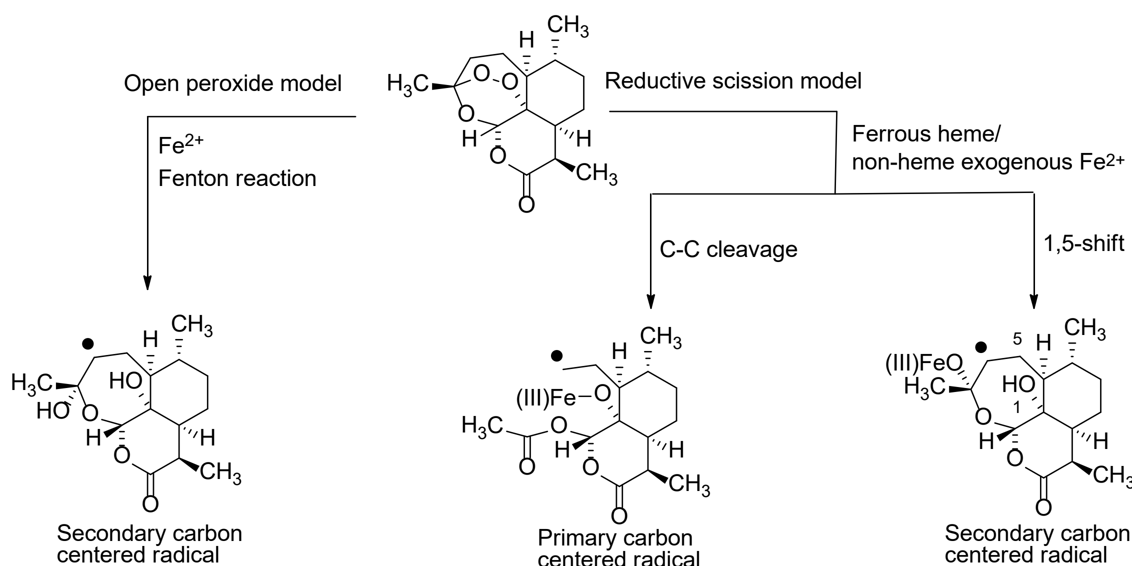
Về mặt cấu trúc, artemisinin và các dẫn chất đều là các sesquiterpen lactone mang hệ vòng 1,2,4-trioxane trong đó cầu nối peroxide nội phân tử là cấu trúc thiết yếu của nhóm thuốc này. Tác động kháng ký sinh trùng sốt rét của artemisinin không liên quan đến đặc tính quang học, do (+)-artemisin tự nhiên và (-)-artemisinin tổng hợp không có sự khác biệt rõ rệt về hoạt tính kháng ký sinh trùng sốt rét [37].

Bảng 8.5. Artemisinin và các dẫn chất trong các trị liệu phối hợp ACT

Các trị liệu phối hợp dựa trên dẫn chất artemisinin theo khuyến nghị của WHO	
Artemether	Lumefantrine
Artesunate	Amodiaquine
Artesunate	Mefloquine
Artesunate	Pyrimethamine/Sulfadoxine
Artesunate	Pyronaridine
Dihydroartemisinin	Piperaquine

Đến nay, cơ chế tác động của artemisinin và các dẫn chất vẫn chưa được hiểu rõ hoàn toàn. Nghiên cứu cho thấy artemisinin và các dẫn chất có độc tính chọn lọc trên tế bào ký sinh trùng sốt rét so với các tế bào lành của động vật hữu nhũ [39]. Artemisinin và các dẫn

chất dễ dàng thấm qua màng tế bào của ký sinh trùng sốt rét, tại đây được hoạt hóa thành các gốc tự do carbon, rồi tấn công lên các phân tử có hoạt tính sinh học của ký sinh trùng. Một số cơ chế đề xuất liên quan đến việc gây rối loạn chức năng màng, hoặc can thiệp lên quá trình tạo thành hemozoin trong không bào tiêu hóa, hoặc phân bố vào trong các ty thể gây rối loạn chức năng, hoặc ức chế bơm Ca^{2+}-ATPase trên lưới nội bào (PfATP6) làm ảnh hưởng đến dự trữ calcium của ký sinh trùng [39,40].



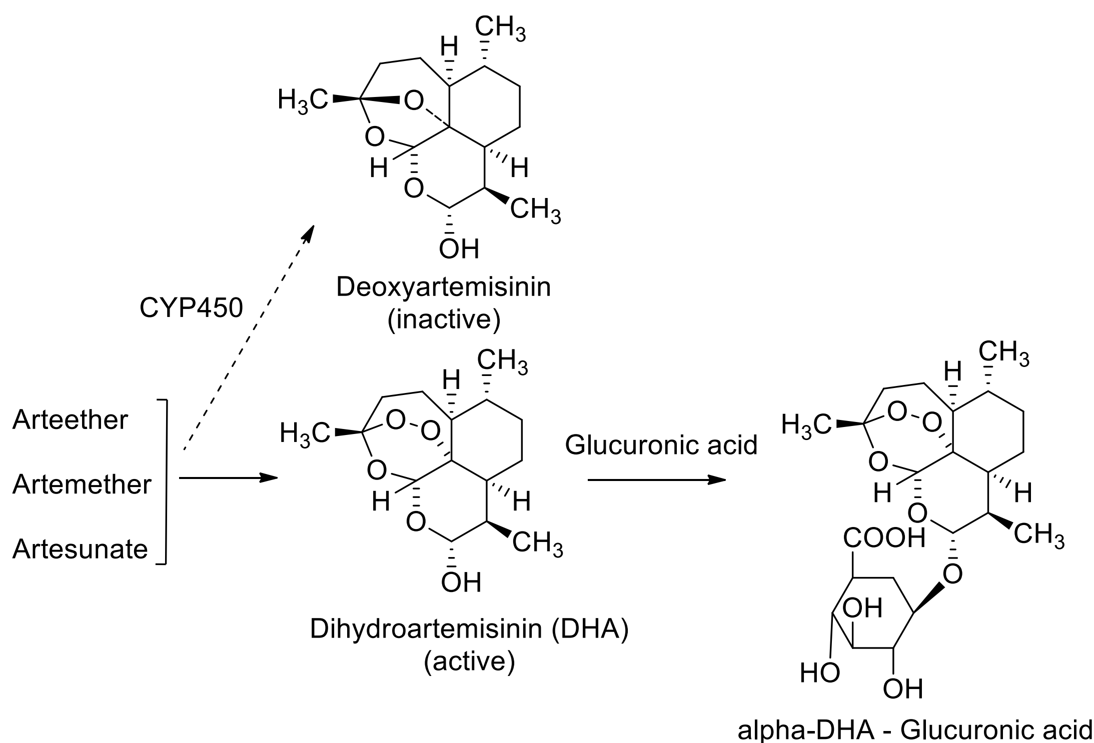
Hình 8.9. Cơ chế tác động được đề xuất của artemisinin và dẫn chất liên quan đến sự tạo thành các gốc carbon tự do bậc I (primary carbon centered radical) hoặc bậc II (secondary carbon centered radical) qua hai con đường, hoặc con đường mở vòng peroxide (open peroxide model) hoặc con đường cắt khử hóa (reductive scission model) (với sự tham gia của ion sắt có nguồn gốc từ heme hay ngoại heme) [38]

Đặc tính được động học [41]**:**

- Các dẫn chất bán tổng hợp của artemisinin được sử dụng theo đường uống, tiêm bắp hoặc đặt trực tràng, riêng dạng muối artesunate natri dễ tan trong nước nên có thể sử dụng theo đường tiêm tĩnh mạch (đường dùng ưu tiên trong trường hợp sốt rét nghiêm trọng).

- Dưới tác động của hệ enzyme gan CYP450 (chủ yếu là CYP2B6 và 3A4), artemether, arteether và artesunate được chuyển hóa nhanh chóng thành dihydroartemisinin, một chất chuyển hóa có hoạt tính và một phần nhỏ được chuyển thành deoxyartemisinin không còn hoạt tính (do mất cấu trúc endoperoxide).

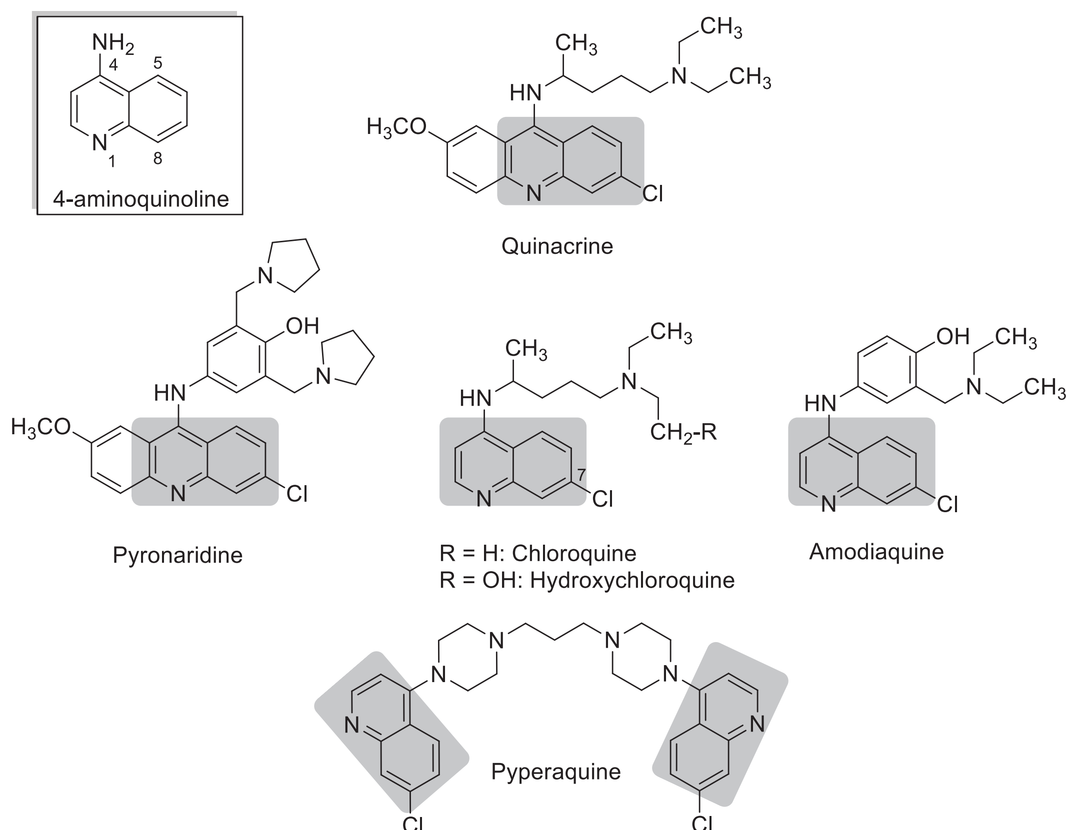
- Tất cả các chất chuyển hóa sau đó trải qua sự liên hợp với glucuronic acid và thải trừ qua nước tiểu.



Hình 8.10. Sự chuyển hóa của các dẫn chất artemisinin

4.4.3. Dẫn chất 4-aminoquinoline: gồm chloroquine, hydroxychloroquine, amodiaquine, piperaquine hiện đang được sử dụng trên lâm sàng; pyronaridine, ferroquine, naphthoquine vẫn còn trong giai đoạn thử nghiệm lâm sàng.

Quinacrine, được khám phá lần đầu vào năm 1930, mang khung cấu trúc 9-aminoacridine. Chất này có thể xem như có một cấu trúc quinoline "mở rộng" gắn chlor, tương tự như trong các dẫn chất 4-aminoquinoline - chloroquine và sontoquine, được tổng hợp lần đầu vào năm 1934 và 1936 [42]. Quinacrine, hay mepacrine hoặc Atebrin, được đưa vào sử dụng trên lâm sàng vào năm 1932, nhưng nhiều tác dụng không mong muốn như kích ứng tiêu hóa, vàng da, vàng mắt nên không còn được sử dụng trên lâm sàng.



Hình 8.11. Chất khởi nguồn quinacrine và các dẫn chất 4-aminoquinoline

Chloroquine, vốn được gọi là resochin lúc ban đầu, chỉ thực sự được sử dụng sau Thế chiến thứ hai (1947) và được xem như là thuốc chống sốt rét hàng đầu tại thời điểm đó do ít độc tính và hiệu quả hơn cả quinine và quinacrine cũng như giá thành sản xuất thấp. Hiện nay, dẫn chất này vẫn còn được sử dụng phổ biến dù nhiều chủng *P. falciparum* đã đề kháng [25,43].

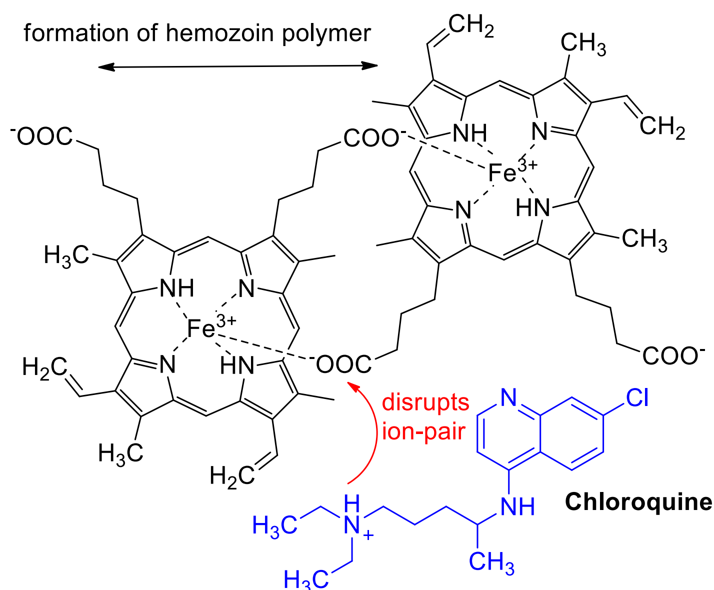
Cơ chế tác động:

Chloroquine và các dẫn chất 4-aminoquinoline khác, cũng như các cinchona alkaloid tác động chủ yếu lên giai đoạn hồng cầu của KST và cơ chế tác động liên quan đến việc ức chế sự giải độc heme của ký sinh trùng sốt rét.

Tại hồng cầu, các ký sinh trùng sốt rét sử dụng phần protein của hemoglobine như một nguồn cung các amino acid và để lại heme như một sản phẩm phụ. Heme (chứa Fe^{2+}) nhanh chóng bị oxy hóa thành hematin (chứa Fe^{3+}) và cả hai chất này đều rất độc với ký sinh trùng sốt rét. Do đó, bên trong không bào tiêu hóa, các hematin được chuyển dạng thành một cao phân tử gọi là hemozoin, cấu thành từ các đơn phân gồm hai phân tử hematin. Hemozoin là một tinh thể sinh học trơ, không độc với ký sinh trùng, tạo thành

các sắc tố đen-nâu có thể phát hiện trên bản phết máu (blood smears) của các bệnh nhân. Hemozoin được dùng như một công cụ hữu hiệu để chẩn đoán sốt rét.

Chloroquine gắn với hematin qua tương tác π-π (π-π stacking), ức chế sự trùng hợp hóa tạo hemozoin. Phức hợp chloroquine-hematin tích tụ gây độc cho ký sinh trùng sốt rét [44].



Hình 8.12. Cơ chế tác động của chloroquine
liên quan đến sự ức chế sự tống xuất hematin của KST sốt rét

Chloroquine có hai trung tâm base tại N của nhân quinoline và N bậc 3 của nhánh bên với pK_{a1} # 10 và pK_{a2} # 8, giúp tích tụ hiệu quả tại không bào tiêu hóa có tính acid (pH # 5.0) theo cơ chế bẫy ion, nên tạo thuận lợi cho tác động gây độc trên ký sinh trùng.

Cơ chế này được đề xuất cho cả các cinchona alkaloid và các dẫn chất arylaminoal-cohol.

Các chủng đề kháng bằng cách tăng biểu hiện các bơm trên màng KST, đẩy chloroquine ra khỏi tế bào.

Chloroquine và amodiaquine thường được sử dụng qua đường uống và có sinh khả dụng tốt (đường tiêm không được khuyến nghị do liên quan đến độc tính trên tim mạch, gây hạ huyết áp nặng, có thể dẫn đến tử vong) [45]. Chloquine được đào thải chủ yếu qua nước tiểu và amodiaquine được đào thải chủ yếu qua mật.

Liên quan cấu trúc - tác động [46]**:**

- Nhân 4-aminoquinoline cần thiết cho tương tác π-π với hematin.

- N của nhân 4-aminoquinoline có tính kiềm và cần thiết cho sự tích tụ phân tử thuốc tại không bào tiêu hóa.

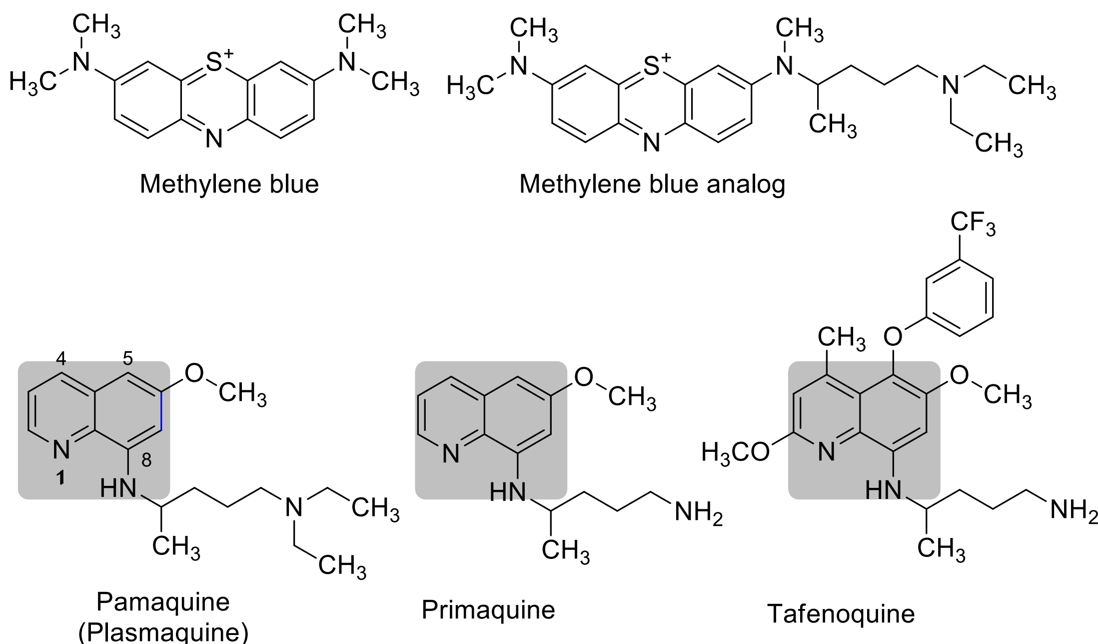
- Vị trí số 7 trên nhân 4-aminoquinoline cần phải gắn các nhóm thế rút điện tử để có tác dụng, như -Cl, -Br, -I, hoặc $-CF_3$. Thay thế Cl tại vị trí số 7 bởi các nhóm thế đẩy điện tử, như $-OCH_3$ hoặc chuyển sang vị trí số 6 gây mất tác động kháng ký sinh trùng sốt rét.

- Khoảng cách giữa hai nitơ của nhánh bên được thu ngắn (2-3C) hoặc kéo dài (10-12C) giúp tăng tác động trên các dòng đề kháng chloroquine.

- Một N có tính kiềm ở nhánh bên cần thiết cho sự tích tụ của thuốc trong không bào tiêu hóa. N có thể là amine bậc hai hoặc bậc ba, thậm chí amine bậc một cũng có tác động trung bình.

4.4.4. Dẫn chất 8-amioquinoline: gồm pamaquine, primaquine và tafenoquine.

Pamaquine là thuốc kháng sốt rét tổng hợp hóa học toàn phần được phát hiện thứ hai, sau xanh methylene. Tác động chống sốt rét quan sát được của phẩm nhuộm xanh methylene dẫn đến thử nghiệm của một chuỗi hợp chất ở đó nhóm methyl trong xanh methylene được thay thế bởi một chuỗi diethylaminoalkyl, kết quả là pamaquine được tổng hợp vào năm 1925, được đưa vào sử dụng trên lâm sàng lần đầu vào năm 1932 [25,47].



Hình 8.13. Đánh số khung cấu trúc của các dẫn chất 8-aminoquinoline được sử dụng trên lâm sàng

Tuy nhiên, pamaquine hiện không còn được sử dụng do độc tính đáng kể: 17 trường hợp tử vong được ghi nhận có liên quan đến việc sử dụng pamaquine, phần lớn các trường hợp là do tán huyết cấp tính [48]. Primaquine và tafenoquine được chấp thuận để sử dụng chống lại ký sinh trùng ở giai đoạn gan trong điều trị sốt rét lành tính và tiêu diệt thể ngủ phòng tái phát gây ra bởi *P. vivax* và *P. ovale*.

Cơ chế tác động được của nhóm dẫn chất này vẫn chưa được hiểu rõ. Một số nghiên cứu cho rằng các dẫn chất này có thể can thiệp vào chuỗi truyền điện tử hô hấp tế bào [42]. Một cơ chế đề xuất khác liên đến sự tạo thành các gốc tự do, gây ra stress oxy hóa cho ký sinh trùng. Các gốc tự do này dường như cũng liên quan đến độc tính tạo methemoglobine máu (do sự oxy hóa ion Fe^{2+} trong nhân heme), gây giảm lượng glutathione trong các tế bào hồng cầu và có thể gây ra sự tán huyết ở các bệnh nhân thiếu hụt enzyme G6PD (glucose 6 – phosphate dehydrogenase) [49].

Do độc tính này, các dẫn chất 8-aminoquinoline chống chỉ định cho các bệnh nhân nguy cơ cao bị độc tính bởi các gốc tự do, như các bệnh nhân bị thiếu hụt enzyme G6PD.

Đặc tính dược động học:

Primaquine và tafenoquine được hấp thu tốt theo đường uống. Primaquine có thời gian bán thải chỉ khoảng 4 - 6 giờ, do đó cần phải được sử dụng hàng ngày trong 14 ngày để đạt hiệu quả. Bệnh nhân có thể không tuân thủ điều trị, vì các tác dụng không mong muốn có thể tăng nặng trong quá trình sử dụng [50]. Hiệu quả của primaquine có thể liên quan đến hoạt động của hệ CYP450, đặc biệt là CYP2D6 do các bệnh nhân có hoạt tính enzyme CYP2D6 yếu hoặc trung bình có nguy cơ bị tái phát cao hơn [51]. Dường như hệ enzyme này chuyển hóa primaquine thành chất trung gian có hoạt tính. Cấu trúc này vẫn chưa được xác định chính xác [52].

Tafenoquine có thời gian bán thải lên đến 14 - 16 ngày, do đó có thể được sử dụng hàng ngày trong 3 ngày trước khi đi vào vùng dịch tễ lưu hành sốt rét, dùng thuốc mỗi tuần một lần khi đang lưu trú trong vùng dịch tễ và khi trở về từ vùng dịch tễ thì dùng thêm một liều vào thời điểm 7 ngày sau liều cuối cùng trước khi rời khỏi vùng dịch tễ.

Liên quan cấu trúc - tác động [46]**:**

- Nhóm amine tận cùng ở nhánh bên:

+ Một nhóm thế amine có thể bị ion hóa ở cuối mạch cần thiết cho tác dụng. Nhóm chức amine bậc nhất làm giảm độc tính.

+ Bảo vệ nhóm amine bằng sự acyl hóa giúp ngăn sự bất hoạt sớm, kéo dài thời gian tác dụng.

+ Chuyển amine bậc một cuối mạch nhánh thành carboxylic acid gây mất tác dụng.

- Thêm nhóm thế *tert*-butyl ở vị trí C2 làm giảm độc tính và tăng nhẹ hoạt tính.

- Thêm nhóm thế methyl ở vị trí C4 làm tăng đồng thời cả độc tính và hoạt tính.

- Thêm nhóm thế phenoxy tại vị trí C5 làm giảm độc tính và tăng hoạt tính.

- Nhóm thế methoxy ở vị trí C6 làm tăng đồng thời cả độc tính và hoạt tính.

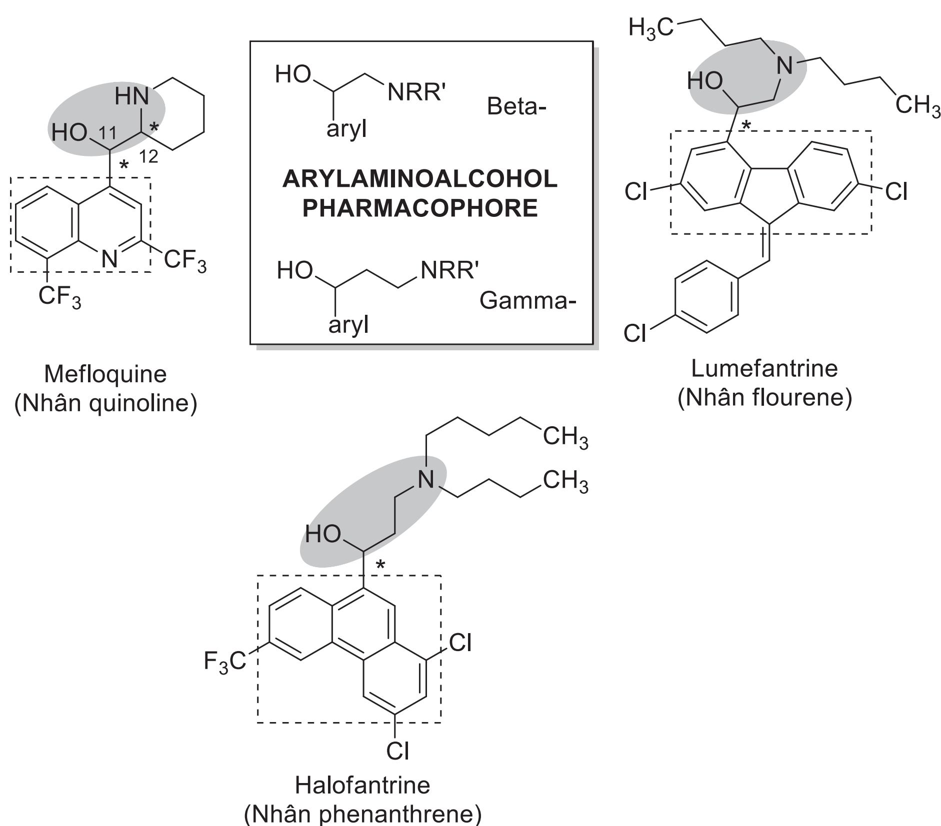
- Một nhóm chức amine bậc 2 ở vị trí C8 cần thiết cho tác dụng.

4.4.5. Dẫn chất arylaminoalcohol: gồm mefloquine, lumefantrine và halofantrine.

Mefloquine có cấu trúc gần hơn với quinine, được phát triển vào những năm 1960 và được FDA chuẩn thuận để dùng dự phòng và điều trị sốt rét vào năm 1989 [53]. Mefloquine có hai trung tâm bất đối (C11, C12) và được thương mại hóa dưới dạng hỗn hợp racemic. Đồng phân (-)-mefloquine (11*R*,12*S*) tác dụng kém hơn đồng phân (+)-mefloquine và được cho là gắn với các thụ thể adenosine tại não, do đó gây ra các tác dụng không mong muốn trên thần kinh như mất ngủ, lo âu, trầm cảm và giấc mơ bất thường. Thuốc này hữu ích để điều trị những dạng KST sốt rét đề kháng với chloroquine nhưng cũng đã ghi nhận sự đề kháng của KST với thuốc này.

Lumefantrine được nghiên cứu đầu tiên tại Trung Quốc trong những năm 1970 [42]. Phân tử này mang một vòng thơm flourene, có một trung tâm bất đối trong cấu trúc. Lumefantrine được thương mại hóa dưới dạng một hỗn hợp racemic, với hai đồng phân quang học có tác dụng tương đương nhau. Phân tử này kém tan trong nước nên sinh khả dụng đường uống thấp và biến đổi, điều này có thể cải thiện khi dùng thuốc cùng với thức ăn, nhất là bữa ăn giàu chất béo [53]. Lumefantrine thể hiện tác động hiệp đồng (synergism) *in vitro* với artemether và phối hợp này được sử dụng trên lâm sàng [54].

Halofantrine được nghiên cứu trong những năm 1960 và mang một nhân phenanthrene trong cấu trúc. Hiện tác nhân này bị rút khỏi thị trường ở nhiều quốc gia do các độc tính trên tim mạch [53].



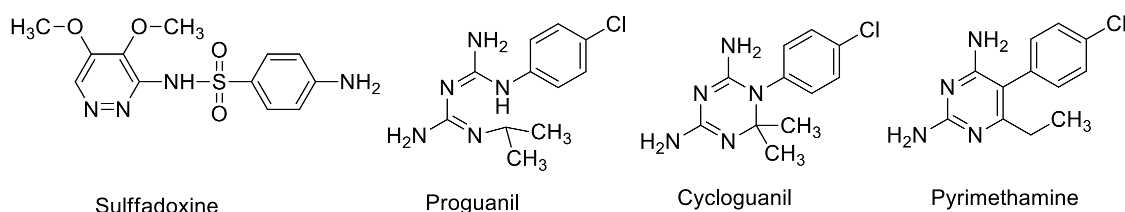
Hình 8.14. Cấu trúc của các tác nhân kháng ký sinh trùng sốt rét mang pharmacophore arylaminoalcohol

Cơ chế tác động đề xuất của các tác nhân này cũng liên quan đến sự ức chế sự hình thành hemozoin của KST ở giai đoạn hồng cầu, tương tự như cơ chế tác động của các dẫn chất 4-aminoquinoline và các cinchona alkaloid.

Tác động không mong muốn đáng lưu tâm của nhóm dẫn chất này là gây kéo dài khoảng QT, có khả năng gây xoắn đỉnh, đặc biệt là halofantrine. Ngoài ra, mefloquine còn có thể gây các tác động trên thần kinh và tâm lý. Do đó, chống chỉ định các dẫn chất này ở các bệnh nhân bị loạn nhịp, rối loạn dẫn truyền, có tiền sử động kinh, rối loạn tâm lý (riêng với mefloquine).

4.4.6. Tác nhân kháng folate

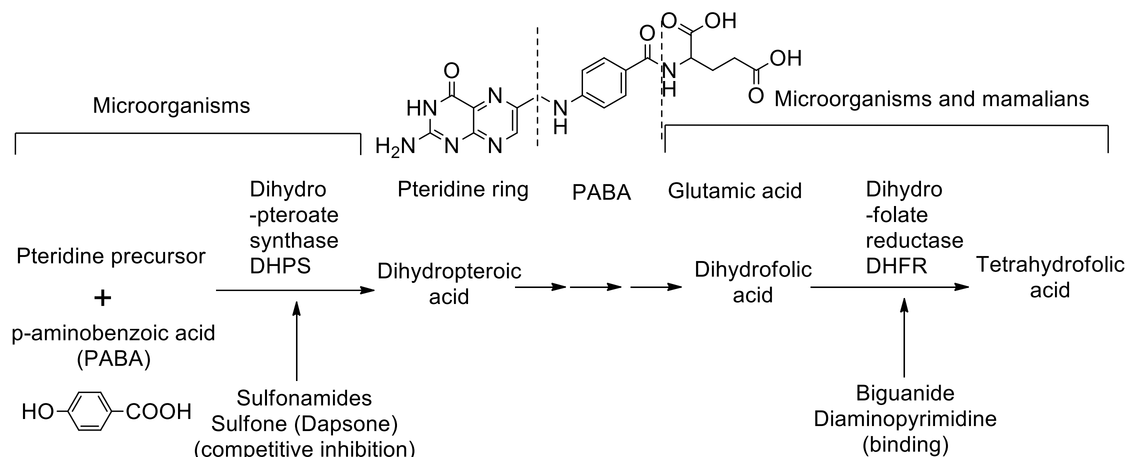
Nhóm này gồm các tác nhân tác động trên quá trình sinh tổng hợp và hoạt hóa folic acid. Nhóm này gồm các dẫn chất sulfonamide (chủ yếu là sulfadoxine), các dẫn chất biguanide và diamiopyrimidine [55].



Hình 8.15. Cấu trúc của các tác nhân kháng folate

Giống như các sulfonamide khác, **sulfadoxine** có cấu trúc tương đồng với *p*-aminobenzoic acid (PABA), do đó can thiệp vào quá trình sinh tổng hợp dihydropteroic acid, từ đó ức chế sự tổng hợp folic acid. Do cơ thể người chỉ thu nhận folic acid có nguồn gốc ngoại sinh, nên sulfadoxine có độc tính chọn lọc rất tốt trên KST. Tuy vậy, sulfadoxine lại liên quan đến các trường hợp dị ứng nặng có thể dẫn đến tử vong như hồng ban đa dạng (erythema multiforme), hội chứng Stevens-Johnson, hoại tử thượng bì nhiễm độc (toxic epidermal necrolysis) và hội chứng bệnh huyết thanh (serum sickness syndrome).

Proguanil (hay chloguanide) là một dẫn chất biguanide nổi lên từ một chương trình sàng lọc trong thế chiến thứ hai như một hợp chất chống sốt rét hiệu quả. Dẫn chất này là một tiền dược, tại gan được chuyển hóa thành **cycloguanil** (một dẫn chất 1,3,5-triazine) có hoạt tính. **Pyrimethamine**, một dẫn chất diaminopyrimidine, là một chất đồng thể tích điện sinh học (bioisotere) của cycloguanil. Do cấu trúc tương đồng với folic acid, cycloguanil và pyrimethamine cạnh tranh gắn kết với enzyme dihydrofolate reductase (DHFR), ức chế sự chuyển dạng của folic acid và dihydrofolic acid thành dạng coenzyme tetrahydrofolate có hoạt tính, vốn cần thiết cho quá trình sinh tổng hợp amino acid và nucleic acid. Cả hai dẫn chất này có ái lực mạnh với enzyme DHFR của KST so với enzyme tương ứng ở ký chủ, do đó ít ảnh hưởng đến quá trình hoạt hóa folic acid của ký chủ.



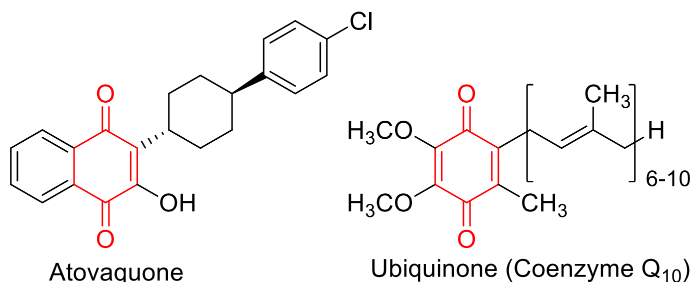
Hình 8.16. Cơ chế tác động của các tác nhân kháng folate

Phối hợp pyrimethamine/sulfadoxine từng được khuyến nghị trong dự phòng và điều trị các trường hợp sốt rét đề kháng chloroquine và có thể phối hợp với quinine. Tuy nhiên, phối hợp này hiện không còn được sử dụng do tình hình đề kháng tăng cao. Dù có hiệu lực trên giai đoạn gan và hồng cầu của KST, phối hợp này không có tác động trên thể giao bào như nhiều tác nhân tác động trên giai đoạn hồng cầu khác.

Proguanil thường được dùng phối hợp với chloroquine hoặc atovaquone. Phối hợp proguanil/chloroquine được chỉ định trong các trường hợp sốt rét nhẹ đề kháng chloroquine. Phối hợp proguanil/atovaquone được sử dụng trong cả dự phòng và điều trị sốt rét lành tính đề kháng các tác nhân kháng sốt rét khác.

4.4.7. Dẫn chất naphthoquinone: atovaquone [14].

Dường như do mang cấu trúc naphtoquinone tương đồng với coenzyme Q10 (ubiquinone), atovaquone ức chế chuỗi hô hấp tế bào tại phức hợp cytochrome bc1 trong ty thể ký sinh trùng. Tác động này gây sự thiếu hụt năng lượng ATP cho ký sinh trùng. Sự khác biệt về cấu trúc của vị trí gắn kết quinone trên phức hợp cytochrome bc1 của người và của ký sinh trùng giúp tạo ra tác động chọn lọc của atovaquone.



Hình 8.17. Cấu trúc tương đồng giữa atovaquone và ubiquinone (coenzyme Q_{10})

Atovaquone có tính thân dầu cao, tốc độ hấp thu thấp. Khi sử dụng đơn lẻ, KST sẽ tiếp xúc với hoạt chất ở nồng độ thấp trong thời gian dài, làm thuận lợi quá trình đề kháng. KST có thể đề kháng bằng các đột biến tại đích tác động cytochrome bc1 và chỉ một đột biến điểm có thể tạo ra hiệu quả. Atovaquone được sử dụng phối hợp với proguanil, một phần để giảm sự đề kháng, mặt khác, atovaquone giúp tăng hiệu lực của proguanil làm giảm nồng độ thuốc có hiệu quả gây tổn thương màng ty thể của ký sinh trùng.

5. MỘT SỐ TÁC NHÂN ĐIỀU TRỊ KÝ SINH TRÙNG THEO NHÓM BỆNH NHIỄM

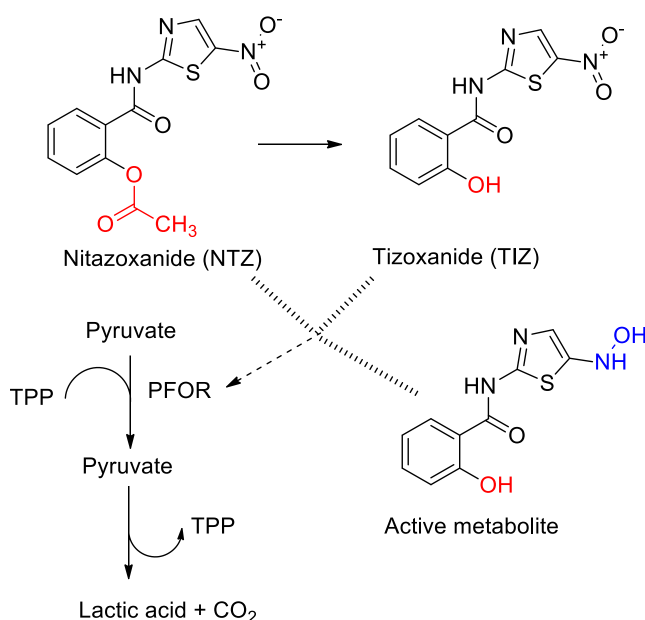
5.1. Các tác nhân kháng Giardia (anti-giardial agents)

5.1.1. Nitazoxanide (NTZ) [5]

NTZ là một tiền dược, được chuyển hóa thành các chất có hoạt tính gồm tizoxanide (TIZ) và chất trung gian hydroxylamine. Các chất chuyển hóa này ức chế hoạt tính của

pyruvate: ferredoxin oxidoreductase (PFOR) và sự tạo thành phức hợp lactyl thiamine pyrophosphate (TPP), từ đó ức chế sự tạo thành lactic acid, một quá trình thiết yếu cho sự sinh tồn của các nguyên sinh động vật.

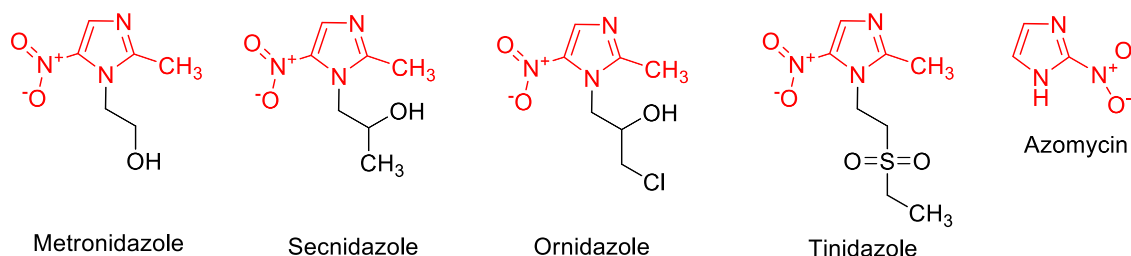
TIZ gắn nhiều với protein huyết tương. Chất này liên hợp với glucuronic acid và được đào thải qua nước tiểu, mật và phân.



Hình 8.18. Quá trình hoạt hóa NTZ dẫn đến tác động ức chế trên PFOR

5.1.2. Dẫn chất 5-nitroimidazole: tinidazole, metronidazole

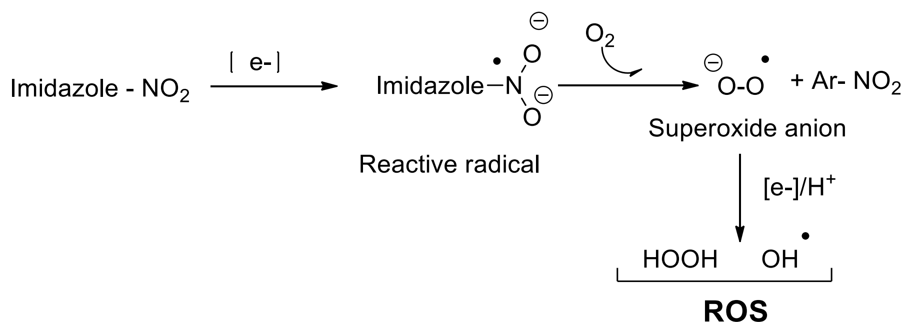
Azomycin là một dẫn chất 2-nitroimidazole tự nhiên có hoạt tính kháng khuẩn, được ly trích lần đầu từ các vi khuẩn *Streptomyces* vào năm 1953 [56]. Phân tử này có hiệu quả trong điều trị *Trichomonas* spp., tuy nhiên độc tính quá cao làm giới hạn khả năng sử dụng trên lâm sàng. Sự khám phá này đã thúc đẩy sự tìm kiếm có hệ thống các hợp chất nitroimidazole có hoạt tính trên các nguyên sinh động vật kỵ khí, tạo ra sự cách mạng trong điều trị các bệnh nhiễm gây ra bởi Entamoeba, Giardia và Trichomonas. Các hợp chất nitroimidazole có thể phân thành hai nhóm lớn là các dẫn chất 5-nitroimidazole và các dẫn chất 2-nitroimidazole (quan trọng nhất là benznidazole được sử dụng trong điều trị bệnh ngủ gây ra bởi *Trypanosoma* spp.) [57].



Hình 8.19. Các dẫn chất 5-nitroimidazole được sử dụng trên lâm sàng

Các dẫn chất 5-nitroimidazole được tổng hợp, trong đó metronidazole và tinidazole có hiệu quả nhất trong điều trị Trichomonas, ngoài ra còn có hiệu lực trên nhiều nhiễm trùng khác gây ra bởi Giardia, Entamoeba, nhiễm trùng răng và *Helicobacter pylori*. Các dẫn chất này tác động tốt với các nhiễm trùng xảy ra trong môi trường yếm khí. Tinidazole có thời gian bán thải dài hơn metronidazole và có thể được sử dụng trong các trường hợp đề kháng metronidazole.

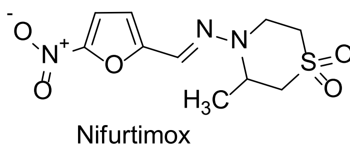
Các dẫn chất này tác động như một tiền dược. Bên trong tế bào ký sinh trùng, các dẫn chất này tạo thành các gốc tự do chứa oxy (reactive oxygen species - ROS), từ đó tấn công và gây ra các sai lệch trong cấu trúc di truyền (RNA, DNA), gây độc cho KST [5].



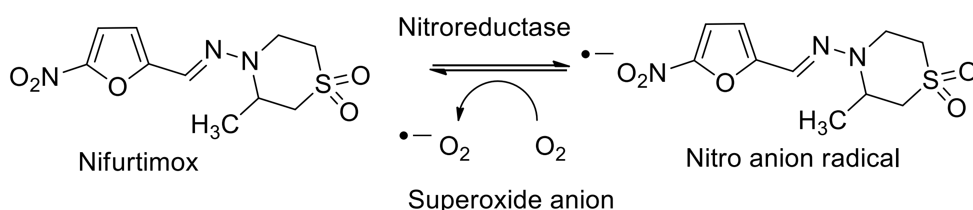
Hình 8.20. Cơ chế tác động của các dẫn chất 5-nitroimidazole liên quan đến sự tạo thành các ROS

5.2. Các tác nhân kháng Trypanosoma (anti-trypanosomal agents)

5.2.1. Nifurtimox



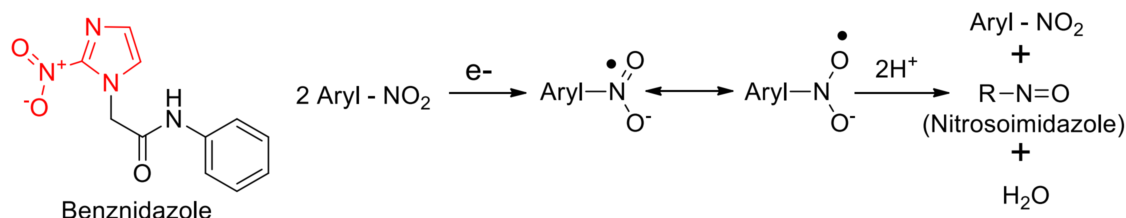
Tương tự như các dẫn chất 5-nitroimidazole, nifurtimox cũng là một tiền dược, việc chuyển dạng do chuyển electron tạo nên các ROS. Các gốc tự do này tấn công lên các đại phân tử sinh học của KST như DNA và các enzyme quan trọng cho sự sống của KST [5].



Hình 8.21. Cơ chế tác động của nifurtimox

5.2.2. Benznidazole

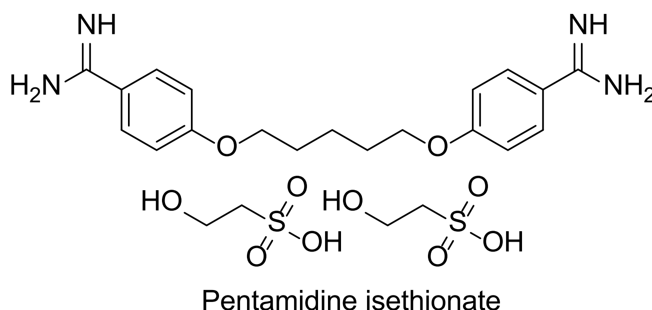
Dù cũng là một tiền dược, nhưng khác với 5-nitroimidazole và nifurtimox, cơ chế tác động đề xuất của dẫn chất 2-nitroimidazole này lại liên quan đến sự tạo thành một dẫn chất nitroso trung gian (R-NO), gắn và gây bất hoạt trypanothione - thành phần giải độc tế bào tương tự glutathione ở người, khiến cho ký sinh trùng dễ bị tổn thương [5].



Hình 8.22. Sự hoạt hóa benznidazole thành dẫn chất nitrosoimidazole

5.2.3. Pentamidine

Cơ chế tác động của tác nhân này vẫn chưa được hiểu rõ hoàn toàn. Tác động ức chế KST của pentamidine có thể do sự gắn kết với DNA qua các nhóm amine được proton hóa, can thiệp vào quá trình sinh tổng hợp DNA. Pentamindine được báo cáo thể hiện tác động ức chế trên topoisomerase II, một enzyme cần thiết cho sự tháo xoắn DNA trong quá trình sinh tổng hợp DNA [5].

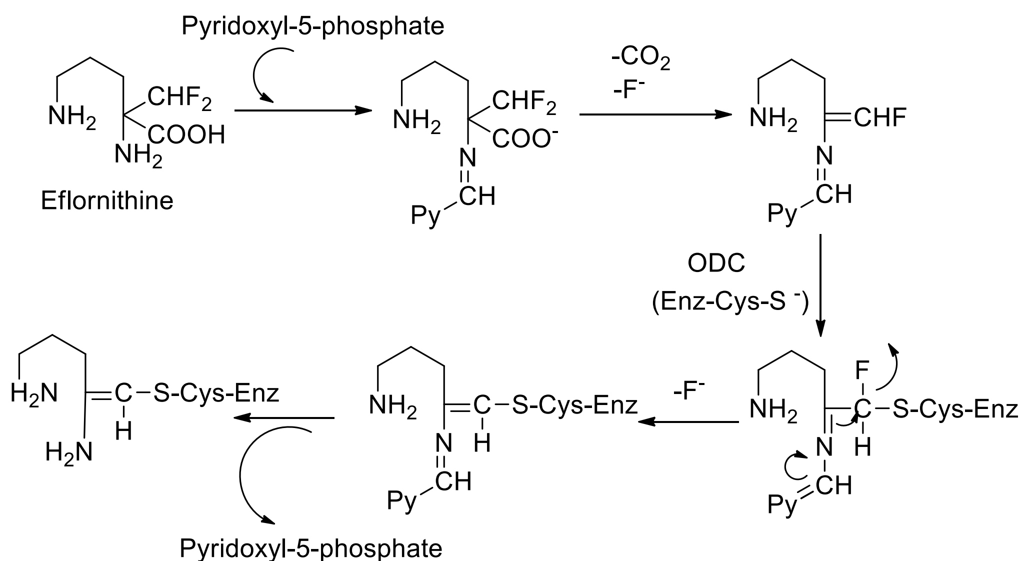


Pentamidine hấp thu kém theo đường uống nên được sử dụng theo đường tiêm truyền tĩnh mạch, ngoài ra còn có dạng bào chế khí dung.

5.2.4. Eflornithine

Tác nhân này tác động như một chất ức chế tự sát (suicide inihibitor) trên enzyme ornithine decarboxylase (ODC). Enzyme này cần thiết cho sự sinh tổng hợp putrescine, là chất trung gian để tổng hợp các polyamine như spermidine và spermine. Các polyamine này đóng vai trò duy trì điện thế màng tế bào.

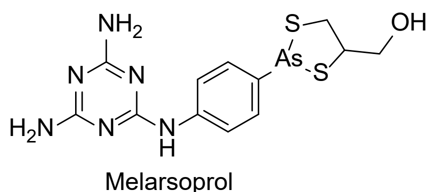
Trong khi ODC của động vật hữu nhũ nhanh chóng được hồi phục do tốc độ sinh tổng hợp protein khá nhanh, ODC của ký sinh trùng bị ảnh hưởng nhiều hơn do tốc độ tái tạo chậm [5].



Hình 8.23. Sự ức chế ODC (Enz-Cys-SH) bởi eflornithine

Rất kém hấp thu qua đường uống, eflornithine thường được sử dụng theo đường tiêm tĩnh mạch để điều trị KST và dạng kem bôi để điều trị rậm lông mặt ở phụ nữ (facial hirsutism).

5.2.5. Melarsoprol



Được phát hiện vào năm 1949, melarsoprol là một hoạt chất arsenic hóa trị III được sử dụng trong điều trị giai đoạn muộn của bệnh ngủ Châu Phi (African trypanosomiasis) gây ra cả bởi *T. brucei gambiense* và *T. brucei rhodesiense*. Trong máu, melarsoprol

nhanh chóng được chuyển hóa thành dẫn chất arsenic (III) oxide (melarsen), có ái lực mạnh với các nhóm sulfhydryl (-SH) hiện diện trong nhiều protein của ký sinh trùng, đặc biệt là trypanothione, một phân tử có tác động giải độc của ký sinh trùng. Tác nhân này được sử dụng theo đường tiêm tĩnh mạch IV và có thể vào trong dịch não tủy [5].

Các độc tính nghiêm trọng đã được báo cáo bao gồm sốt, bệnh não, tổn thương cơ tim, bệnh lý thần kinh ngoại biên và nôn ói.

Hình 8.24. Sự hoạt hóa melarsoprol và cơ chế tác động đề xuất

5.2.6. Natri suramin

Cơ chế đề xuất của tác nhân này là ức chế các hệ enzyme dihydrofolate reductase (DHFR), thymidine kinase và các enzyme đường phân, do đó can thiệp vào quá trình sinh chuyển hóa của ký sinh trùng [5].

Do ở dạng muối natri nên tan tốt trong nước, được sử dụng tiêm truyền tĩnh mạch (IV). Gắn kết mạnh với protein huyết tương, không vào được hệ thần kinh trung ương nhưng được hấp thu chủ động bởi các loài *Trypanosoma* spp. nhờ vào sự nhập bào qua

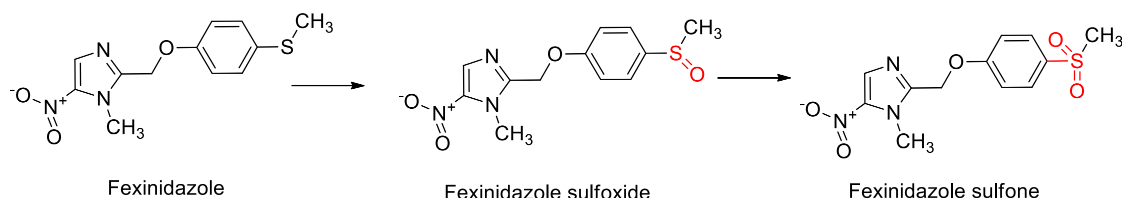
trung gian thụ thể liên quan đến các lipoprotein có tỷ trọng thấp (Low-density lipoprotein-LDL) [58].

Các tác dụng không mong muốn thường gặp gồm buồn nôn, nôn và phản ứng da. Một số phản ứng khác gồm nước tiểu đục và tổn thương vỏ thượng thận (ở khoảng 50% bệnh nhân) cũng được báo cáo và có thể cần đến liệu pháp thay thế corticosteroid.

5.2.7. Fexinidazole

Fexinidazole là một dẫn chất 5-nitroimidazole được tổng hợp đầu tiên vào năm 1978 và được FDA chuẩn thuận vào tháng 7 năm 2021 để điều trị bệnh ngủ Châu Phi gây ra bởi *Trypanosoma brucei gambiense*.

Cơ chế tác động đề xuất có liên quan đến sự khử hóa bởi enzyme nitroreductase của KST, các chất chuyển hóa sulfoxide và sulfone có khả năng tạo thành các chất trung gian có thể tấn công vào các đại phân tử sinh học của KST như nucleic acid và protein. Mặc dù hiệu quả không vượt nifurtimox và eflornithine trong các trường hợp nặng, fexinidazole có ưu điểm là có thể dùng bằng đường uống.

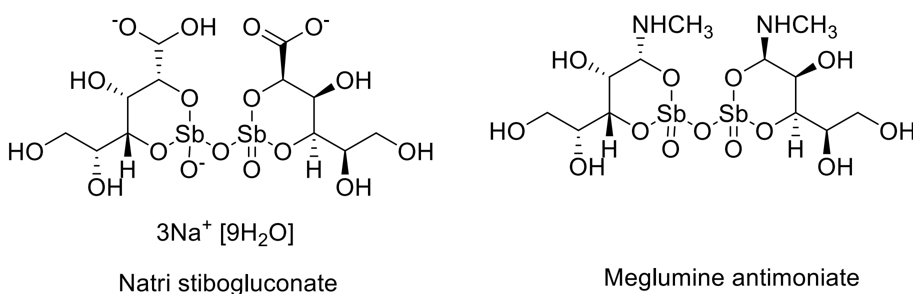


Hình 8.25. Sự hoạt hóa fexinidazole tạo ra các chất chuyển hóa sulfoxide và sulfone có hoạt tính

5.3. Các tác nhân kháng Leishmania (anti-leishmanial agents)

5.3.1. Các tác nhân chứa antimoni (V) (pentavalent antimonials)

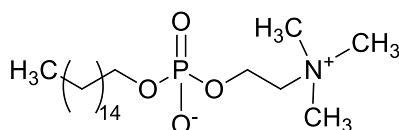
Nhóm này gồm natri stibogluconate và meglumine antimoniate. Các tác nhân này chỉ được sử dụng theo đường tiêm truyền tĩnh mạch (IV), có nhiều tác động không mong muốn nghiêm trọng, trong đó có thể kể đến viêm tụy, loạn nhịp tim và rối loạn chức năng thận [5].



Cơ chế tác động thật sự trên KST vẫn chưa được sáng tỏ, dường như các tác nhân này gây ra sự chết theo hệ thống (apoptosis) do tác động trên các đại phân tử sinh học như nucleic acid.

Trên thực tế, chế phẩm sử dụng là một hỗn hợp các phức Sb(III) và Sb(V) thay vì là các hợp chất tinh khiết (các hợp chất Sb(V) có độc tính thấp hơn Sb(III)).

5.3.2. Miltefosine



Miltefosine

Dẫn chất alkylphosphocholine này được tổng hợp đầu tiên trong thập niên 80 của thế kỷ XX và cho thấy có tác động kháng ung thư chọn lọc. Tuy nhiên, do tác động không mong muốn phụ thuộc vào liều dùng trên tiêu hóa nên không được sử dụng cho mục đích này. Miltefosine được chuẩn thuận tại Ấn Độ năm 2002 và tại Hoa Kỳ năm 2014 để điều trị các bệnh gây ra bởi KST *Leishmania* spp. [59].

Miltefosine là tác nhân điều trị duy nhất dùng đường uống, nhưng cơ chế tác động thật sự vẫn chưa được hiểu rõ, dường như có liên quan đến sự hoạt hóa các con đường gây ra sự chết theo hệ thống (apoptosis). Miltefosine dường như được hấp thu tại ống tiêu hóa nhờ cả hai con đường vận chuyển chủ động và khuếch tán thụ động.

Các tác dụng không mong muốn thường gặp gồm đau bụng, buồn nôn, đau đầu và suy giảm chức năng thận. Nghiêm trọng hơn có thể gồm hội chứng Stevens-Johnson và giảm tiểu cầu.

5.4. Các tác nhân kháng Toxoplasma (anti-toxoplasmal agents)

Bệnh nhiễm do *Toxoplasma gondii* thường không đe dọa tính mạng, trừ ở các bệnh nhân suy giảm miễn dịch. Các triệu chứng cấp thường như cúm, nhưng bệnh nhiễm có thể tiềm ẩn và lây từ mẹ sang con. Bệnh nhiễm thường tự giới hạn nhưng nếu cần phải điều trị thì phối hợp pyrimethamine/sulfadoxine là lựa chọn hàng đầu. Các kháng sinh như clindamycin và spiramycin có thể được sử dụng nhưng chỉ trong các trường hợp nặng, do các tác dụng không mong muốn nghiêm trọng.

5.5. Các tác nhân kháng Trichomonas (anti-trichomonal agents)

Bệnh nhiễm Trichomonas thường không có triệu chứng. KST tồn tại trong môi trường yếm khí tại âm đạo bệnh nhân nữ. Nếu không được điều trị, bệnh nhân là thai phụ có thể bị sinh non và tăng tỷ lệ tử vong của trẻ sơ sinh. Ngoài ra, bệnh nhiễm có thể làm tăng phơi nhiễm bệnh nhân với HIV và ung thư cổ tử cung. Metronidazole và tinidazole

là hai lựa chọn hàng đầu, được sử dụng theo đường uống. Paromomycin đường dùng tại chỗ có thể sử dụng, tuy nhiên hiệu quả ghi nhận trên lâm sàng rất kém.

5.6. Các tác nhân kháng giun sán (antihelminthic agents)

5.6.1. Dẫn chất benzimidazole: mebendazole, albendazole.

Các dẫn chất benzimidazole được phát hiện từ thập niên 60 của thế kỷ XX và hiệu quả trên nhiều loại giun sán đường ruột. Mebendazole và albendazole được sử dụng phổ biến nhất ở người.

Bảng 8.6. Một số dẫn chất benzimidazole được sử dụng trong điều trị giun sán

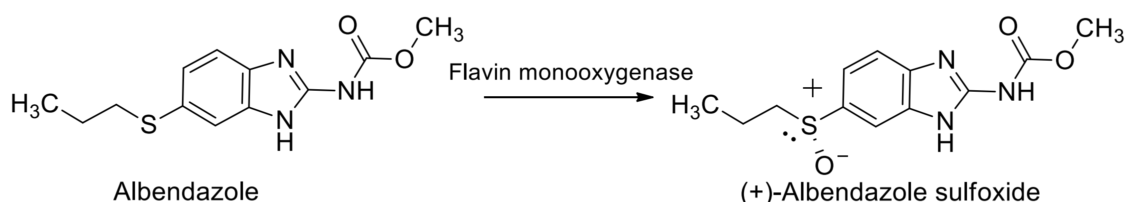
R_2, R_3, N, R_1, NH

Hoạt chất	R_1	R_2	R_3
Mebendazole	$-NH-C(=O)-OCH_3$	$-C(=O)-C_6H_5$	-H
Albendazole	$-NH-C(=O)-OCH_3$	$-S\ CH_2\ CH_2\ CH_3$	-H
Thiabendazole	N, S	-H	- H
Triclabendazole	$-S\ CH_3$	$-O-C_6H_3Cl_2$ (Cl, Cl)	-Cl
Fenbendazole	$-NH-C(=O)-OCH_3$	$-S-C_6H_5$	-H
Flubendazole	$-NH-C(=O)-OCH_3$	$-C(=O)-C_6H_4-F$	-H

Fenbendazole và flubendzole được sử dụng điều trị giun sán trên vật nuôi.

Các tác nhân này kém tan trong nước, hấp thu kém tại ống tiêu hóa. Điều này có ích cho tác động kháng giun sán tại ruột.

Albendazole tác dụng như một tiền dược, được chuyển hóa trong cơ thể thành dạng hoạt tính (+) sulfoxide, có thời gian bán thải dài hơn so với albendazole và mebendazole. Do đó, albendazole thường được sử dụng để điều trị bệnh ấu trùng nang sán chó (hydatid disease – gây ra bởi sự tích tụ các nang chứa ấu trùng của sán dải chó *Echinococcus granulosus* trong phổi) vốn có thời gian tiềm tàng dài [14].



Hình 8.26. Sự hoạt hóa albendazole tạo dẫn chất sulfoxide có hoạt tính

Cơ chế tác động đề xuất của các dẫn chất benzimidazole liên quan đến sự ức chế enzyme fumarate reductase ở ty thể của KST và gắn vào các tubulin của KST, ức chế sự trùng hợp hóa tạo vi ống của KST. Các vi ống này cần thiết cho quá trình phân bào, đặc biệt là các tế bào thành ruột của giun sán. Một khi bị ức chế, các tế bào thành ruột của giun sán không thể phân chia, giun sán không thể hấp thu chất dinh dưỡng và sẽ chết [14].

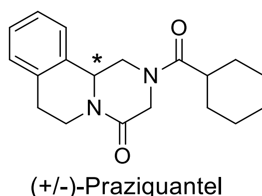
5.6.2. Praziquantel

Phân tử này được phát triển trong những năm 1970, là điều trị ưu tiên cho các bệnh nhiễm sán máng (schistosomiasis).

Một vài cơ chế tác động của praziquantel được đề xuất gồm [5]:

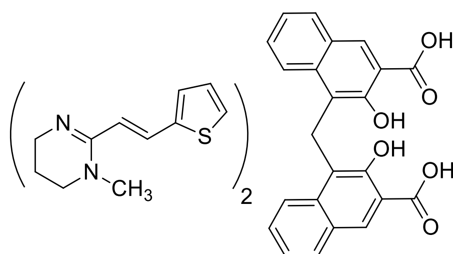
- Trên giun sán tại ruột: praziquantel gây sự co cơ và tê liệt do tăng dòng Ca^{2+} đi vào giun sán, dẫn đến sự đẩy ra của giun sán.

- Trên giun sán nội mạch: praziquantel gây tổn thương cấu trúc vỏ giun sán, khiến giun sán bộc lộ các kháng nguyên, gây phản ứng kháng thể - kháng nguyên và dẫn đến cái chết của giun sán do sự tấn công của hệ miễn dịch của vật chủ.



Praziquantel được sử dụng dạng hỗn hợp racemic, nhưng chỉ có dạng tả triền có hoạt tính sinh học. Chất này được hấp thu nhanh, gắn kết nhiều với protein huyết tương (~85%) và nhanh được được chuyển hóa thành các các chất chuyển hóa không có tác dụng.

5.6.3. Pyrantel pamoate

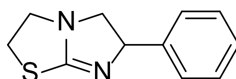


Pyrantel pamoate

Hợp chất này tác động như một tác nhân chẹn thần kinh cơ tại thụ thể nicotinic, gây ra sự tê liệt của giun sán. Chất này cũng ức chế enzyme cholinesterase của giun sán [5].

Dạng muối pamoate của pyrantel không tan trong nước, không được hấp thu, do đó chỉ được sử dụng giới hạn với các giun sán tại lòng ruột.

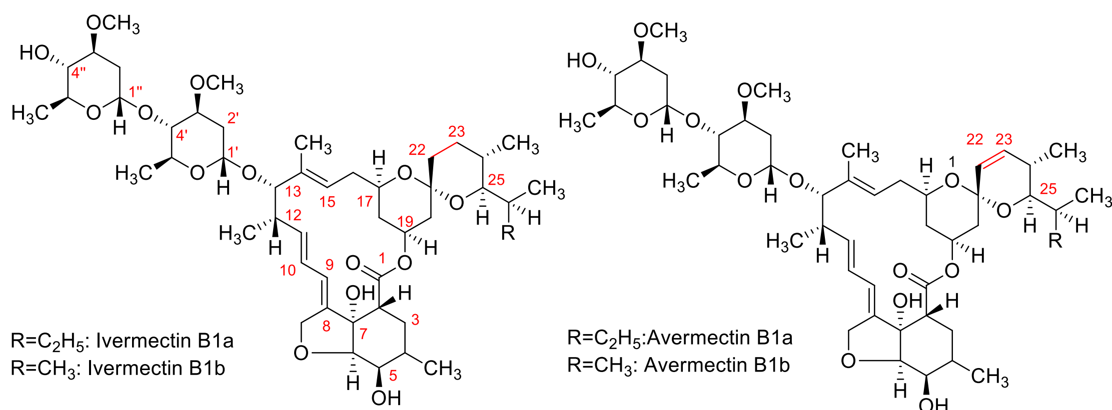
5.6.4. Levamisole



Levamisole

Levamisole được phát hiện vào năm 1966 trong một chương trình tầm soát chung của Janssen. Tác nhân này chủ vận trên thụ thể nicotinic của acetylcholine, gây ra sự khử cực liên tục của tế bào cơ giun sán, kéo theo sự bơm Na^+ và K^+ ra khỏi tế bào, gây ra liệt cơ của giun sán. Levamisole rất hiệu quả trên các giun tròn, được sử dụng trong cả điều trị cho người và động vật [5].

5.6.5. Ivermectin



Năm 1970, một chủng vi khuẩn *Streptomyces* được phát hiện, dịch môi trường nuôi cấy có tác dụng rất tốt trên *Nematospiroides dubius*, một loại giun tròn ở chuột. Từ dịch môi trường này, một nhóm các dẫn chất macrolide lactone được phân lập và được đặt tên là các avermectin, hoặc đôi khi còn gọi là abamectin [60].

Avermectin tự nhiên là một hỗn hợp gồm bốn hợp chất, avermectin A1, A2, B1, B2, mỗi hợp chất lại có hai dạng a và b [61,62].

Ký hiệu A và B để chỉ sự hiện diện của nhóm methoxy hoặc nhóm hydroxy tại vị trí C5.

Ký hiệu 1 và 2 nhằm chỉ sự hiện diện của một một liên kết đôi giữa C22 và C23, hoặc một nguyên tử hydro tại C22 và một nhóm hydroxy tại C23.

Ký hiệu a và b nhằm chỉ sự hiện diện một nhóm *sec*-butyl hoặc *iso*-propyl tại C25.

Các khác biệt rất nhỏ trong cấu trúc này có ý nghĩa rất lớn về mặt hoạt tính sinh học. Dù các thử nghiệm ban đầu cho thấy cả bốn avermectin đều có tác động trên các giun tròn tại ruột của chuột và cừu, các avermectin B có hoạt tính mạnh nhất [63]. Khi sử dụng theo đường uống, thì avermectin B1 lại hiệu quả hơn B2, ngược lại, avermectin B2 lại tốt hơn B1 khi sử dụng theo đường tiêm tĩnh mạch [62]. Từ cơ sở đó, các avermectin B tự nhiên được biến đổi hóa học tại vị trí C22 và C23 nhằm tìm ra một tác nhân kháng giun sán bán tổng hợp có thể đem lại hiệu quả điều trị và cả hiệu quả thương mại.

Ivermectin là một dẫn chất bán tổng hợp của avermectin B1, gồm khoảng 80% 22,23-dihydro-avermectin B1a và khoảng 20% 22,23-dihydro-avermectin B1b [61,62]. Phân tử này có thể sử dụng cả theo đường uống và đường tiêm, có hoạt tính kháng giun tròn tốt và rộng, cũng như trên nhiều loài động vật ký sinh ngoài nhưng không hiệu quả trên sán dải hay sán lá. Đặc biệt, ivermectin rất an toàn trên nhiều động vật hữu nhũ, trừ một số cá thể chó bị đột biến xóa ở gen quy định MDR1 – một P-glycoprotein hoạt động ở hàng rào máu não, thì có thể xuất hiện các tác động thần kinh [64]. Cơ chế tác động của ivermectin có thể liên quan đến sự chủ vận GABA, gây mở kênh Cl- trên thụ thể GABA, tạo nên tình trạng quá phân cực màng (hyperpolarization), khiến giun sán bị tê liệt, không thể ăn uống và sinh sản, rồi từ từ chết.

Ivermectin hấp thu tốt qua đường uống, gắn kết nhiều với protein huyết tương (~93%), nên có thời gian bán thải dài. Liều đơn độc có thể cho tác động bảo vệ trong 6 - 12 tháng.

Câu hỏi lượng giá

1. Nêu định nghĩa về ký sinh trùng và các nhóm ký sinh trùng chính?
2. Phân loại các thuốc điều trị ký sinh trùng sốt rét theo tác động và theo cấu trúc hóa học?
3. Nêu cơ chế tác động của các thuốc diệt giun sán thường gặp?
4. Nêu cơ chế tác động của ivermectin?

Tài liệu tham khảo

1. Baron S, editor. Medical Microbiology. 4th ed. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996. Introduction to Parasitology.
2. Ashford R, Crewe W. Parasites of Homo sapiens: An Annotated Checklist of the Protozoa, Helminths and Arthropods for which we are Home. 1st ed. CRC Press. 2003.
3. Cox FE. History of human parasitology. Clin Microbiol Rev. 2002 Oct; 15(4): 595-612. Erratum in: Clin Microbiol Rev. 2003 Jan; 16(1): 174.
4. Vannier E, Gewurz BE, Krause PJ. Human babesiosis. Infect Dis Clin North Am. 2008 Sep; 22(3): 469-488, viii-ix.
5. Foye WO, Lemke TL, Williams DA. Foye's principles of medicinal chemistry. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2008. Parasitic drugs.
6. Deeks ED. Fexinidazole: First Global Approval. Drugs. 2019 Feb; 79(2): 215-220.
7. Sundar S, Singh A. Chemotherapeutics of visceral leishmaniasis: present and future developments. Parasitology. 2018 Apr; 145(4): 481-489.
8. Sindermann H, Engel J. Development of miltefosine as an oral treatment for leishmaniasis. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2006; 100(suppl 1): S17-S20.
9. Dubey JP. Toxoplasma Gondii. In: Baron S, editor. Medical Microbiology. 4th ed. University of Texas Medical Branch at Galveston; Galveston (TX): 1996.
10. Thadanipon K, Anothaisintawee T, Rattanasiri S, Thakkinstian A, Attia J. Efficacy and safety of antiscabietic agents: A systematic review and network meta-analysis of randomized controlled trials. J Am Acad Dermatol. 2019 May; 80(5): 1435-1444.
11. Malaria [Internet]. 2021 [Cited 2022 Jan 08]. Available from: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/malaria.
12. Phillips MA, Burrows JN, Manyando C, van Huijsduijnen RH, Van Voorhis WC, Wells TNC. Malaria. Nat Rev Dis Primers. 2017 Aug 3; 3:17050.

13. Thompson P. Antimalarial agents: chemistry and pharmacology. Vol. 12. Elsevier; 2012.

14. Watson DG. Pharmaceutical and Medicinal Chemistry. Edinburgh: Churchill Livingstone; 2011.

15. Cartwright AC. The British Pharmacopoeia, 1864 to 2014: Medicines, International Standards and the State. Routledge: New York; 2016.

16. Woodward RB, Doering WE. Total synthesis of quinine 1. J Am Chem Soc. 1944; 66: 849-849.

17. Tsimachidis D, Cesla P, Hájek T, Theodoridis G, Jandera P. Capillary electrophoretic chiral separation of Cinchona alkaloids using a cyclodextrin selector. J Sep Sci. 2008 Apr; 31(6-7): 1130-1136.

18. Giles P. Revised Section F: Natural products and related compounds. Pure and Applied Chemistry. 1999; 71(4): 587-643.

19. Achan J, Talisuna AO, Erhart A, Yeka A, Tibenderana JK, Baliraine FN, Rosenthal PJ, D'Alessandro U. Quinine, an old anti-malarial drug in a modern world: role in the treatment of malaria. Malar J. 2011 May 24; 10: 144.

20. Quinidine. In: AHFS DI (Adult and Pediatric) [database on the Internet]. Hudson, Ohio: Hudson, Ohio: Wolters Kluwer UpToDate, Inc.; 2021 [updated 2020 Nov 4, cited 2022 Jan 8].

21. Boratyński PJ, Zielińska-Błajet M, Skarżewski J. Cinchona Alkaloids-Derivatives and Applications. Alkaloids Chem Biol. 2019; 82: 29-145.

22. Song CE. An overview of cinchona alkaloids in chemistry. Cinchona Alkaloids in Synthesis and Catalysis: Ligands, Immobilization and Organocatalysis, 1-10; 2009

23. Taggart JV, Earle DP, Berliner RW, Zubrod CG, Welch WJ, Wise NB, Schroeder EF, London IM, Shannon JA. Studies on the chemotherapy of the human malarias. III. The physiological disposition and antimalarial activity of the cinchona alkaloids. J Clin Invest. 1948 May; 27(3 Pt 2): 80-86.

24. Warhurst DC, Thomas SC. Pharmacology of the malaria parasite--a study of dose-response relationships in chloroquine-induced autophagic vacuole formation in Plasmodium berghei. Biochem Pharmacol. 1975 Nov 15; 24(22): 2047-2056.

25. Egan TJ. Quinoline Antimalarials. Expert Opin Ther Patents. 2001; 11(2): 185-209.

26. Warhurst D, Craig J, Adagu I, Meyer D & Lee S.The relationship of physico-chemical properties and structure to the differential antiplasmodial activity of the cinchona alkaloids. Malaria journal. 2003; 2(1): 26.

27. Ghavami M, Dapper CH, Dalal S, Holzschneider K, Klemba M, Carlier PR. Parallel inhibition of amino acid efflux and growth of erythrocytic Plasmodium falciparum by mefloquine and non-piperidine analogs: Implication for the mechanism of antimalarial action. Bioorg Med Chem Lett. 2016 Oct 1; 26(19): 4846-4850.

28. Fitch CD. Ferriprotoporphyrin IX, phospholipids, and the antimalarial actions of quinoline drugs. Life Sci. 2004 Mar 5; 74(16): 1957-1972.

29. Krishna S, White NJ. Pharmacokinetics of quinine, chloroquine and amodiaquine. Clinical implications. Clin Pharmacokinet. 1996 Apr; 30(4): 263-299.

30. Sullivan DJ. Cinchona alkaloids: Quinine and quinidine. In Staines H, Krishna S, editors, Treatment and Prevention of Malaria: Antimalarial Drug Chemistry, Action and Use. 2012. pp.45-68 (Milestones in Drug Therapy).

31. Woodland JG, Hunter R, Smith PJ, Egan TJ. Shining new light on ancient drugs: preparation and subcellular localisation of novel fluorescent analogues of Cinchona alkaloids in intraerythrocytic Plasmodium falciparum. Org Biomol Chem. 2017 Jan 18; 15(3): 589-597.

32. Klayman DL. Qinghaosu (artemisinin): an antimalarial drug from China. Science. 1985 May 31; 228(4703): 1049-1055.

33. Woodrow CJ, Haynes RK, Krishna S. Artemisinins. Postgrad Med J. 2005 Feb; 81(952): 71-78.

34. Balint GA. Artemisinin and its derivatives: an important new class of antimalarial agents. Pharmacol Ther. 2001 May-Jun; 90(2-3): 261-265.

35. Ashton M, Gordi T, Trinh NH, Nguyen VH, Nguyen DS, Nguyen TN, Dinh XH, Johansson M, Le DC. Artemisinin pharmacokinetics in healthy adults after 250, 500 and 1000 mg single oral doses. Biopharm Drug Dispos. 1998 May; 19(4): 245-250.

36. World Health Organization. Consolidated Guidelines for malaria. Rev ed. [Internet]. 221 [cited 2022 Jan 08]. Available from: https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/guidelines-for-malaria.

37. Krieger J, Smeilus T, Kaiser M, Seo EJ, Efferth T, Giannis A. Total Synthesis and Biological Investigation of (-)-Artemisinin: The Antimalarial Activity of Artemisinin Is not Stereospecific. Angew Chem Int Ed Engl. 2018 Jul 2; 57(27): 8293-8296.

38. Khanal P. Antimalarial and anticancer properties of artesunate and other artemisinins: current development. Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly. 2021: 1-14.

39. O'Neill PM, Barton VE, Ward SA. The molecular mechanism of action of artemisinin--the debate continues. Molecules. 2010 Mar 12; 15(3): 1705-1721.

40. Pandey N, Pandey-Rai S. Updates on artemisinin: an insight to mode of actions and strategies for enhanced global production. Protoplasma. 2016 Jan; 253(1): 15-30.

41. Medhi B, Patyar S, Rao RS, Byrav D S P, Prakash A. Pharmacokinetic and toxicological profile of artemisinin compounds: an update. Pharmacology. 2009; 84(6): 323-332.

42. Schlitzer M. Malaria chemotherapeutics part I: History of antimalarial drug development, currently used therapeutics, and drugs in clinical development. Chem Med Chem. 2007 Jul; 2(7): 944-986.

43. COATNEY GR. Pitfalls in a discovery: the chronicle of chloroquine. Am J Trop Med Hyg. 1963 Mar; 12: 121-128.

44. Slater AF, Cerami A. Inhibition by chloroquine of a novel haem polymerase enzyme activity in malaria trophozoites. Nature. 1992 Jan 9; 355(6356): 167-169.

45. Pussard E, Verdier F. Antimalarial 4-aminoquinolines: mode of action and pharmacokinetics. Fundam Clin Pharmacol. 1994; 8(1): 1-17.

46. Graham LP, editor. Antimalarial Agents. Elsevier. 2020: 65-98. The cinchona alkaloids and the aminoquinolines

47. Kaur K, Jain M, Reddy RP, Jain R. Quinolines and structurally related heterocycles as antimalarials. Eur J Med Chem. 2010 Aug; 45(8): 3245-3264.

48. Recht J, Ashley EA, White NJ. Safety of 8-Aminoquinoline Antimalarial Medicines. World Health Organization: Geneva, 2014. Available from: http://www.who.int/malaria/publications/atoz/9789241506977/en/.

49. Waters NC, Edstein MD. 8-Aminoquinolines: Primaquine and Tafenoquine. In Treatment and Prevention of Malaria; Springer Basel; 2011: 69–94.

50. Greaves J, Evans DA, Gilles HM, Fletcher KA, Bunnag D, Harinasuta T. Plasma kinetics and urinary excretion of primaquine in man. Br J Clin Pharmacol. 1980 Oct; 10(4): 399-404.

51. Davis TM, Moore BR, Salman S, Page-Sharp M, Batty KT, Manning L. Use of quantitative pharmacology tools to improve malaria treatments. Expert Rev Clin Pharmacol. 2016; 9(2): 303-316.

52. Bennett JW, Pybus BS, Yadava A, Tosh D, Sousa JC, McCarthy WF, Deye G, Melendez V, Ockenhouse CF. Primaquine failure and cytochrome P-450 2D6 in Plasmodium vivax malaria. N Engl J Med. 2013 Oct 3; 369(14): 1381-1382.

53. Nosten F, Phillips-Howard PA, ter Kuile FO. Other 4-Methanolquinolines, Amyl Alcohols and Phentathrenes: Mefloquine, Lumefantrine and Halofantrine. In Treatment and Prevention of Malaria; Springer Basel, 2011; pp.95-111.

54. Achieng AO, Rawat M, Ogutu B, Guyah B, Michael Ong'echa J, J Perkins D, Kempaiah P. Antimalarials: Molecular Drug Targets and Mechanism of Action. Curr Top Med Chem. 2017; 17(19): 2114-2128.

55. Olliaro P. Mode of action and mechanisms of resistance for antimalarial drugs. Pharmacol Ther. 2001 Feb; 89(2): 207-219.

56. Maeda K, Osato T, Umezawa H. A new antibiotic, azomycin. J Antibiot (Tokyo). 1953 Dec; 6(4): 182.

57. Nair MD, Nagarajan K. Nitroimidazoles as chemotherapeutic agents. Progress in drug research. Fortschritte der Arzneimittelforschung. Progres des recherches pharmaceutiques. 1983; 27: 163-252.

58. Franco J, Scarone L, Comini MA. Drugs and Drug Resistance in African and American Trypanosomiasis. Annual Reports in Medicinal Chemistry. 2018.

59. Dorlo TP, Balasegaram M, Beijnen JH, de Vries PJ. Miltefosine: a review of its pharmacology and therapeutic efficacy in the treatment of leishmaniasis. J Antimicrob Chemother. 2012 Nov; 67(11): 2576-2597.

60. Burg RW, Miller BM, Baker EE, Birnbaum J, Currie SA, Hartman R, Kong YL, Monaghan RL, Olson G, Putter I, Tunac JB, Wallick H, Stapley EO, Oiwa R, Omura S. Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: producing organism and fermentation. Antimicrob Agents Chemother. 1979 Mar; 15(3): 361-367.

61. Campbell WC. An introduction to the avermectins. N Z Vet J. 1981 Oct; 29(10): 174-178.

62. Campbell WC, Fisher MH, Stapley EO, Albers-Schönberg G, Jacob TA. Ivermectin: a potent new antiparasitic agent. Science. 1983 Aug 26; 221(4613): 823-828.

63. Blair LS, Campbell WC. Efficacy of avermectin B1a against microfilariae of Dirofilaria immitis. Am J Vet Res. 1979 Jul; 40(7): 1031-1032.

64. Mealey KL, Bentjen SA, Gay JM, Cantor GH. Ivermectin sensitivity in collies is associated with a deletion mutation of the mdr1 gene. Pharmacogenetics. 2001 Nov; 11(8): 727-733.

Chương 9

THUỐC KHÁNG UNG THƯ

Trần Kiên

Các hoạt chất được đề cập

Thuốc ức chế EGFR	*Thuốc ức chế VEGFR/VEGF*	*Chất ức chế Bcr-Abl*
Gefitinib	Sorafenib	Imatinib
Erlotinib	Regorafenib	Nilotinib
Afatinib	Sunitinib	Dasatinib
Osimertinib	Pazopanib	Ponzatinib
Cetuximab	Bevacizumab	
Chất ức chế ALK	*Chất ức chế KRAS*	*Chất ức chế CDK4/6*
Crizotinib	Sotorasib	Palbociclib
Alectinib	Adagrasib	Ribociclib
Lorlatinib		Abemaciclib
Brigatinib		
Chất ức chế PI3Kα	*Chất ức chế mTOR*	*Chất ức chế proteasome 26S*
Alpelisib	Temsirolimus	Bortezomib
	Everolimus	
Chất ức histone deacetylase	*Chất đối vận với estrogen*	*Ức chế aromatase*
Romidepsine	Tamoxifen	Anastrozole
Vorinostat	Fulvestrant	Letrozole
		Formestane
Chất ức chế tổng hợp purine	*Chất ức chế DHFR*	*Chất ức chế thymidine synthetase*
6-Mercaptopurine	Methotrexate	5-Fluorouracil (5-FU)
	Pemetrexed	Capecitabine
	Pralatrexate	

Chất ức chế topoisomerase	*Chất ức chế DNA polymerase*	*Chất chèn vào mạch DNA (intercaling agent)*
Irinotecan	Gemcitabine	Doxorubicin
Topotecan	Cytarabine	Epirubicin
Etoposide		Mitoxantrone
Chất tạo gốc tự do phá hủy DNA	*Nhóm alkyl hóa*	*Nhóm platin*
Bleomycin	Cyclophosphamide	Cisplatin
	Ifosphamide	Oxaliplatin
		Carboplatin
Chất ức chế tubulin nhóm vinca	*Chất ức chế tubulin nhóm taxol*	
Vincristine	Paclitaxel	
Vinblastine	Docetaxel	
Vinorelbine	Carbazitaxel	

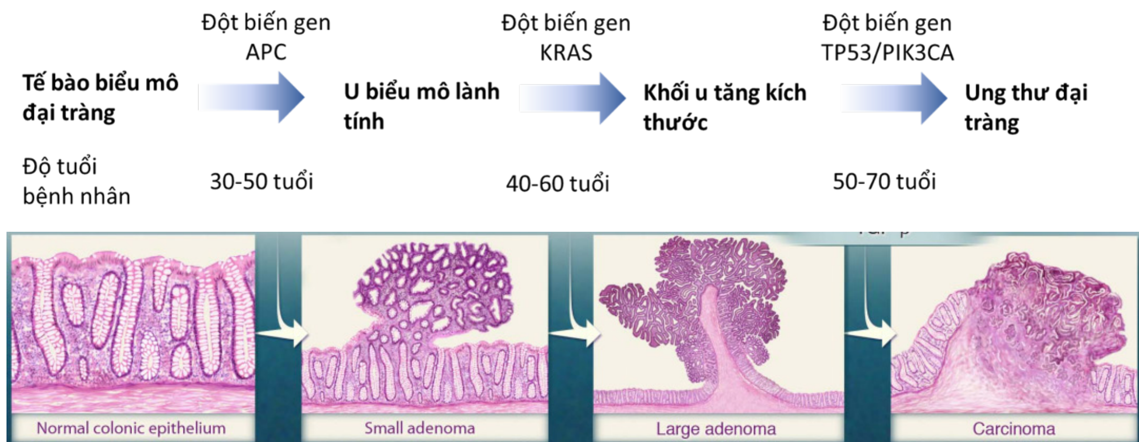
1. ĐỊNH NGHĨA UNG THƯ

Ung thư (cancer) là bệnh lý loạn sản tế bào gây ra bởi các đột biến tích tụ trong hệ gen. Ung thư có thể xảy ra ở bất kỳ cơ quan nào trong cơ thể, từ các mô liên kết dạng lỏng như ung thư máu cho đến các loại mô rắn như ung thư gan, ung thư vú. Ung thư không phải là một bệnh duy nhất mà là một nhóm khoảng 200 loại bệnh [1], mỗi loại ung thư có nguyên nhân và cơ chế phát triển khác nhau.

Các tế bào bình thường trong cơ thể người được sinh ra, phân chia (proliferation) và chết một cách có kiểm soát (apoptosis). Tế bào ung thư được phát triển từ các tế bào bị đột biến (mutation). Nguyên nhân đột biến có thể đến từ lỗi sao chép DNA trong quá trình phân bào, các tác nhân hóa học (aflatoxin, dioxine, nitrate, acrylamide) hoặc vật lý (tia phóng xạ, tia UV). Thông thường các lỗi DNA sẽ được sửa chữa bằng nhiều cơ chế khác nhau, tuy nhiên một số lỗi có thể không được phát hiện và lưu lại trong bộ gene tế bào. Khi các lỗi này được dịch mã thành các protein biến dị, có hoạt tính không bình thường, tế bào trở thành tế bào đột biến. Các tế bào đột biến phát triển càng nhanh, quá trình sao chép gene càng nhiều thì nguy cơ đột biến ngày càng cao. Điều này dẫn tới hiệu ứng domino thường gặp: đột biến ở gene thứ nhất theo thời gian sẽ dẫn tới đột biến ở gene thứ 2 và dần dần hàng loạt gene khác. Đến một ngưỡng nhất định (đột biến đến các gene kiểm soát việc phân bào: p53, PIK3CA), việc phân chia tế bào sẽ vượt tầm kiểm soát và trở nên không giới hạn (Hình 9.1). Tế bào lúc này trở thành tế bào ung thư, không chết đi mà phân chia mãi mãi. Ở các mô rắn chúng sẽ tạo thành khối u. Các tế bào phân chia

ngày càng nhiều thì các tích lũy được các đột biến có thể cho phép chúng có các tính năng mới, có thể tách rời khỏi khối u ban đầu, thích nghi với môi trường xung quanh và xâm lấn các cơ quan khác. Quá trình này gọi là di căn (metastasis).

Ung thư được phân loại theo cơ quan nội tạng nơi khối u khởi phát (ung thư phổi, ung thư gan, ung thư dạ dày) hoặc theo loại bản chất loại mô như carcinoma (ung thư da hoặc biểu mô các nội tạng), adenoma (u lành biểu mô các tuyến tiết như tuyến yên), sarcoma (ung thư mô liên kết như xương, sụn, mỡ, mạch máu), lymphoma (ung thư tế bào bạch cầu lympho).



Hình 9.1. Quá trình tích lũy các đột biến hình gây ra ung thư đại tràng. Hình minh họa được dịch và tham khảo từ Volgenstein *et al.*, Science 2013, 339, 1546-1558

Số lượng gen đột biến trong tế bào ung thư càng nhiều thì dường như bệnh càng khó điều trị [2]. Một trường hợp điển hình là ung thư tăng lympho bào cấp tính (ALL, acute lymphoblastic leukemia) chỉ có 10 - 15 đột biến phát hiện được trong hệ gene so với khoảng 50 đến 80 đột biết ở các loại ung thư khác như ung thư vú, ung thư trực tràng hay ung thư tụy [2]. Thực tế điều trị cho thấy khoảng 90% bệnh nhân mắc ALL (ít đột biết trong gen) có thể được chữa khỏi hoàn toàn bởi hóa trị cổ điển kết hợp xạ trị [3], trong khi các loại ung thư khác (có nhiều đột biến) rất khó chữa trị. Khi ung thư khu trú ở một cơ quan có thể điều trị dứt điểm bằng phẫu thuật, ung thư di căn (metastasis) chỉ có thể điều trị bằng hóa trị liệu hoặc miễn dịch trị liệu.

Ung thư là một trong những nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trên thế giới, chỉ sau các bệnh lý về tim mạch [4]. Khoảng 70% các ca tử vong do ung thư được thống kê ở các nước có thu nhập trung bình và thu nhập thấp [4], dường như cho thấy sự liên quan giữa khả năng tầm soát, phát hiện sớm và việc áp dụng các phương pháp trị liệu mới tới hiệu quả điều trị cho bệnh nhân. Theo thống kê tại Mỹ và Canada, khoảng 38 - 45% dân số sẽ mắc ung thư vào một thời điểm nào đó trong đời [5,6]. Các thông số trên cho thấy ung thư là một vấn đề lớn đối với sức khỏe cộng đồng hiện nay và trong tương lai.

Bảng 9.1. Các loại ung thư phổ biến trên thế giới và ở Việt Nam

Các loại ung thư phổ biến trên thế giới năm 2018 [4]	Các loại ung thư phổ biến ở Việt Nam năm 2018 [7]
- Ung thư phổi (2.09 triệu ca)	- Ung thư gan (15.4 %, khoảng 25000 ca mới)
- Ung thư vú (2.09 triệu ca)	- Ung thư phổi (14.4 %)
- Ung thư đại tràng (1.8 triệu ca)	- Ung thư dạ dày (10.6 %)
- Ung thư tuyến tiền liệt (1.28 triệu ca)	- Ung thư vú (9.2 %)
	- Ung thư đại tràng (8.9 %)
Bốn loại ung thư nêu trên chiếm 48% các ca ung thư mới [5]	Nguyên nhân có thể do thói quan sinh hoạt liên quan đến rượu bia, tỷ lệ mắc viêm gan B, viêm gan C và *H. pylori* cao

Các phương pháp điều trị ung thư bao gồm:

- Phẫu thuật, xạ trị: khi khối u còn khu trú ở một cơ quan nhất định.

- Hóa trị, miễn dịch trị liệu: hỗ trợ chống tái phát sau phẫu thuật, xạ trị hoặc dùng để điều trị khi ung thư đã lan rộng ra nhiều cơ quan.

Phần lớn các loại ung thư ở giai đoạn muộn khó có thể chữa khỏi hoàn toàn. Để đánh giá hiệu quả điều trị, một số khái niệm sau đây thường được sử dụng trong thử nghiệm thuốc trị ung thư:

- OS: overall survival. Thời gian sống của bệnh nhân từ khi chẩn đoán có bệnh hoặc từ khi bắt đầu điều trị bệnh.

- PFS: progression-free survival. Thời gian bệnh nhân sống chung với bệnh nhưng bệnh không diễn tiến xấu đi.

Mục đích của việc điều trị ung thư là kéo dài thời gian OS và PFS, hạn chế tác dụng phụ, đồng thời cải thiện chất lượng cuộc sống cho bệnh nhân.

2. PHÂN LOẠI THUỐC TRỊ UNG THƯ

Có hơn 100 loại thuốc trị ung thư khác nhau, cơ bản có thể phân loại thành thuốc hóa trị liệu cổ điển (standard chemotherapy) và thuốc trị liệu trúng đích (targeted therapy).

Thuốc hóa trị liệu cổ điển: nhắm vào các tế bào phân chia nhanh, một đặc tính điển hình của các tế bào ung thư. Các phác đồ sử dụng thuốc độc tế bào cổ điển đạt được những thành tựu nhất định trong điều trị ung thư tăng lympho bào cấp tính (ALL), ung thư dạng Hodgkin di căn, ung thư nhau thai di căn (choriocarcinoma), với tỷ lệ chữa khỏi hoàn toàn khá cao. Tuy nhiên đối với các loại ung thư phổ biến như ung thư phổi, ung thư vú, hiệu quả điều trị rất hạn chế. Trong cơ thể cũng có một số nhóm tế bào phát triển nhanh ngay

cả trong điều kiện bình thường, ví dụ như tế bào tạo máu, mô sinh dục, niêm mạc tiêu hóa. Do đó các thuốc hóa trị liệu cổ điển thường gây tác dụng phụ khá lớn như rụng tóc, hạ bạch cầu, rối loạn tiêu hóa, vô sinh. Tuy nhiên các thuốc này vẫn được sử dụng rộng rãi và là lựa chọn đầu tay trong việc điều trị nhiều loại ung thư. Nguyên nhân chủ yếu do ung thư do nhiều loại đột biến khác nhau gây ra, không có nguyên nhân duy nhất mà cơ chế chưa được hiểu hết. Hơn nữa các tác nhân trị liệu chọn lọc hơn hiện chưa được phát triển. Hai bệnh nhân cùng mắc ung thư phổi có thể có đột biến hoàn toàn khác nhau và không thể điều trị bởi cùng một phác đồ thuốc chọn lọc trên đích tác động.

Bảng 9.2. Các thuốc hóa trị liệu cổ điển

Cơ chế tác động	Nhóm thuốc - cơ chế cụ thể
Ức chế chuyển hóa (antimetabolite)	• Nhóm ức chế tổng hợp folate: ***methotrexate, pemetrexed,*** pralatrexate • Nhóm ức chế tổng hợp pyrimidine: ***capecitabine, 5-fluorouracil (5-FU),*** floxuridine • Một số nhóm khác: ức chế tổng hợp purine (mercaptopurine, thioguanine), ức chế DNA methyltrasferase (azacitidine, decitabine, nelarabine)
Chất ức chế topoisomerase	• Nhóm camptothecin: ***irinotecan,*** topotecan • Các nhóm khác như epipodophyllotoxine (etoposide, teniposide)
Chất ức chế DNA polymerase	• ***gemcitabine,*** cytarabine, fludarabine, clofarabine, cladribine
Chất chèn, cắt mạch DNA	• Nhóm kháng sinh anthracycline: ***doxorubicin, epirubicin,*** varubicin, daunorubicin, idarubicin, mitoxanthron, dactinomycin • Kháng sinh trị ung thư: bleomycin, mitomycin, dactinomycin
Cơ chế tạo liên kết chéo chuỗi DNA (DNA cross-linking agents)	• Nhóm nitrogen mustard: ***cyclophosphamide,*** ifosphamide, chlorambucine • Một số nhóm khác: nitrosourea (carmustine, lomustine, streptozocin), procarbazin và triazenes (dacarbazine, procarbazine, temozolomide) • Nhóm platin: ***cisplatin, oxaliplatin, carboplatin,*** picoplatin, satraplatin
Ức chế phân bào nhắm vào tubulin	• Nhóm taxane: ***paclitaxel, docetaxel,*** carbazitaxel • Nhóm vinca: ***vincristine,*** *vinblastine,* ***vinorelbine***

Các thuốc in đậm được dùng khá nhiều trong lâm sàng tại Việt Nam để điều trị các loại ung thư phổ biến.

Thuốc trị liệu trúng đích (targeted therapy): ức chế các chuỗi truyền tín hiệu (signaling pathway) và các protein đột biến kiểm soát quá trình phân chia tế bào. Nhóm này có hiệu quả cao, an toàn hơn so với hóa trị liệu. Tuy nhiên không thể áp dụng rộng rãi mà chỉ có thể áp dụng trên các khối u có đột biến tương ứng mà thuốc nhắm tới. Trong điều kiện lý tưởng, bệnh nhân cần được xét nghiệm gene và kháng nguyên để biết khối u có các loại đột biến nào, có đáp ứng với trị liệu trúng đích hay không. Hơn nữa, số lượng các đột biến trong khối u khá lớn, thường liên quan đến hơn 10 chuỗi protein truyền tín hiệu (signaling pathways) trong tế bào và hiện còn nhiều đích tác động trong các chuỗi này chưa có chất ức chế tương ứng [2]. Các nhóm thuốc trị liệu trúng đích dùng thường gặp trong lâm sàng bao gồm [8]:

Bảng 9.3. Các thuốc chọn lọc trên đích tác động

Nhóm thuốc	Đích tác động: thuốc ức chế
Chất ức chế tyrosine kinase	• EGFR: **gefitinib, erlotinib,** osimertinib, lapatinib, kháng thể đơn dòng **cetuximab,** necitumulab • HER2: kháng thể đơn dòng trastuzumab, pertuzumab. • VEGF, VEGFR: **sorafenib,** regorafenib, sunitinib, pazopanib, cabozantinib, lenvatinib, **bevacizumab,** ramucirumab, aflibercept • ALK: crizotinib, alectinib, lorlatinib • Bcr-Abl: imatinib, dasatinib
Chất ức chế ras và chuỗi Ras/Raf/MEK	• KRAS: sotorasib, adagrasib • FPP, GGPP: risedronate, zoledronate • Raf: **sorafenib,** regorafenib
Chất ức chế serine-threonine kinase	• CDK 4/6: ribociclib • PI3K: alpelisib • mTOR: everolimus
Thuốc ức chế chốt miễn dịch	• PD-1: pembrolizumab, nivolumab • PD-L1: atezolizumab
Ức chế thụ thể hormone	• ER: **tamoxifen,** fulvestrant
Một số cơ chế khác	• Ức chế histone deacetylase: romidepsin, vorinostate • Ức chế proteasome 26S: bortezomib

Các thuốc in đậm được dùng khá nhiều trong lâm sàng tại Việt Nam để điều trị các loại ung thư phổ biến.

Thuốc điều trị miễn dịch: giúp hệ miễn dịch phát hiện và tiêu diệt các tế bào ung thư. Các tế bào ung thư thường có cơ chế sử dụng các protein bề mặt như PD-L1 để tương tác với thụ thể PD-1 trên tế bào lympho và tránh phát hiện bởi hệ miễn dịch. Bằng cách khóa PD-L1 trên tế bào ung thư hoặc PD-1 trên tế bào lympo, hệ miễn dịch có thể được kích hoạt để chống lại khối u. Thử nghiệm lâm sàng cho thấy các thể đơn dòng kháng PD-L1 và PD-1 cho kết quả khả quan, tỷ lệ đáp ứng cao, tăng thời gian sống không triệu chứng (PFS), thời gian sống trung bình cao hơn trị liệu tiêu chuẩn trên nhóm bệnh nhân có PD-L1 dương tính.

Các nghiên cứu hiện nay đang tập trung vào các thuốc trị liệu nhắm trúng đích và trị liệu miễn dịch hiệu quả hơn, có thể nhắm tới các nhóm ung thư với các đột biến phổ biến (KRAS) để thay thế hóa trị liệu cổ điển. Hiện nay, trên một số loại ung thư, thuốc trị liệu trúng đích đã trở thành lựa chọn đầu tay, ví dụ như sorafenib điều trị ung thư gan, trastuzumab điều trị ung thư vú thể HER-2+.

3. PHÁC ĐỒ HÓA TRỊ VÀ ĐIỀU TRỊ MIỄN DỊCH CÁC LOẠI UNG THƯ PHỔ BIẾN

Để minh họa cho việc sử dụng các thuốc trị ung thư, phần dưới đây sẽ giới thiệu các thuốc trong một số phác đồ điều trị các loại ung thư phổ biến ở Việt Nam (ung thư gan, phổi, dạ dày, vú và đại tràng) được Bộ Y tế ban hành. Chi tiết về các thuốc sẽ được giới thiệu rõ hơn trong các phần tương ứng với nhóm thuốc đó.

3.1. Phác đồ điều trị ung thư biển mô tế bào gan

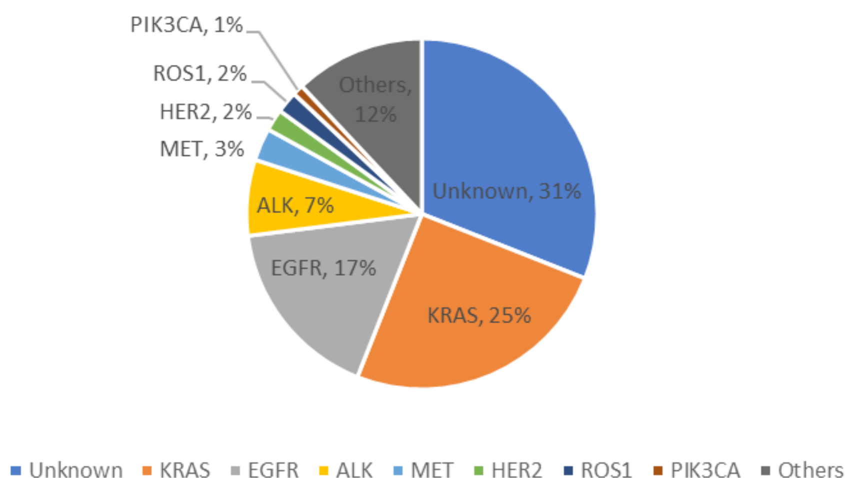
Ung thư biểu mô tế bào gan là loại ung thư gan thường gặp nhất và là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu do ung thư tại Việt Nam (3129/QĐ-BYT) [7]. Hóa trị được chỉ định khi khối u không phẫu thuật được, không thể chỉ định ghép gan hay không thể sử dụng các phương pháp triệt khối u khác (3129/QĐ-BYT).

Lựa chọn đầu tay khi điều trị là sorafenib (Nexavar®), thuốc trị liệu trúng đích, nhóm ức chế kinase nhắm vào chuỗi truyền tín hiệu Raf/MEF/MAPK (các kinase như c-Raf, VEGFR-2), chỉ định khi chức năng gan còn tốt. Lựa chọn khác là lenvatinib, thuốc ức chế kinase VEGFR1-3, FGFR1-4. Khi sorafenib không có hiệu quả, điều trị bước 2 bao gồm regorafenib (là dẫn xuất của sorafenib), pembrolizumab, nivolumab (kháng thể khóa chốt kiểm soát miễn dịch PD-1 trên tế bào lympho-T) hoặc cabozatinib (ức chế thụ thể VEGFR). Các phương pháp trị liệu sử dụng hóa trị toàn thân bằng các thuốc ức chế chuyển hóa hoặc độc tế bào cổ điển mang lại hiệu quả rất hạn chế (3129/QĐ-BYT).

3.2. Phác đồ điều trị ung thư phổi thể không tế bào nhỏ (non-small-cell lung cancer-NSCLC)

NSCLC chiếm 85% các trường hợp ung thư phổi. Hóa trị (nhóm dẫn xuất có platin: cisplatin - tạo liên kết chéo DNA) được sử dụng kết hợp với phẫu thuật khi khối u nhỏ,

còn khu trú. Nếu khối u tiến triển nhưng vẫn khu trú tại chỗ, bệnh nhân có thể được xạ trị kết hợp với hóa trị. Hóa trị chủ lực trong điều trị ung thư phổi là nhóm platin (cisplatin). Thuốc được kết hợp với nhóm taxane (paclitaxel) hoặc vinca (vinorelbine, ức chế tubulin). Ở giai đoạn bệnh di căn hoặc tái phát, phác đồ sẽ bao gồm thuốc hóa trị liệu cổ điển, điều trị nhắm trúng đích và điều trị miễn dịch như phần dưới đây:



Hình 9.2. Các đột biến gene phổ biến trong ung thư tế bào biểu mô phổi (adenocarcinomas), một dạng phổ biến của NSCLC.
Theo Hirsch *et al*. The Lancet 2017, 389, 299-311.

Đầu tiên bệnh nhân sẽ được xét nghiệm tìm các đột biến các tyrosine kinase EGFR và ALK, nếu có sẽ dùng điều trị trúng đích bằng thuốc ức chế EGFR (gefitinib, erlotinib, afatinib, osimertinib) hoặc ức chế ALK (crizotinib, alectinib). Đột biến EGFR và ALK chiếm tỷ lệ khá lớn (7 - 17%, Hình 9.2). Các thống kê trên 325 bệnh nhân ở Việt Nam cho thấy đột biến EGFR chiếm tới 32% [9]. Các thuốc ức chế KRAS hiện đang được thử nghiệm và cho kết quả khả quan.

Nếu không có đột biến ALK hoặc EGFR, bệnh nhân sẽ được điều trị bước 1 với bộ đôi bao gồm dẫn xuất platin kết hợp với các thuốc độc tế bào khác, như phác đồ cisplatin + gemcitabine (ức chế DNA polymerase). Có thể kết hợp thêm các thuốc kháng thể trúng đích như necitumulab - kháng thể khóa EGFR (khi gặp NSCLC tế bào vảy) hoặc bevacizumab - kháng thể trung hòa VEGF-A (khi gặp NSCLC tế bào tuyến). Khi điều trị bước 2, có thể cân nhắc các tùy chọn như hóa trị docetaxel + gemcitabine (có thể kết hợp ramucizumab - kháng thể kháng VEGFR2), điều trị nhắm đích (erlotinib), điều trị miễn dịch (pembrolizumab).

3.3. Phác đồ điều trị ung thư dạ dày

Phẫu thuật vẫn là phương pháp điều trị chính ở giai đoạn sớm. Bệnh nhân có thể được xạ trị hết hợp hóa trị với 5-fluorouracil (5-FU) sau khi phẫu thuật để đề phòng tái phát. Hóa trị đơn thuần với phác đồ ECF (epirubicin-cisplatin-5-FU) hoặc FLOT (5-FU-leucovorin-oxaliplatin-docetaxel) cũng có thể được chỉ định trước phẫu thuật để giảm kích thước khối u hoặc dùng sau phẫu thuật để phòng ngừa khả năng tái phát, di căn. Khi ung thư không còn phẫu thuật được, các phác đồ hóa trị điển hình có thể như sau:

- Phác đồ docetaxel và capecitabine: tỷ lệ đáp ứng 39 - 46%. Thời gian bệnh không tiến triển thêm (PFS = progression free survival) là 4.2 - 6.1 tháng, thời gian sống thêm (OS = overall survival) khoảng 8.4 - 15.8 tháng.
- Phác đồ ECF: epirubicin-cisplatin-5-FU (thời gian sống thêm trung bình (OS) 9.4 tháng). Epirubicine là kháng sinh nhóm anthracycline có nhiều cơ chế như chèn vào DNA, tạo gốc tự do hoặc ức chế hoạt động của topoisomerase trong quá trình sao chép DNA.
- Điều trị nhắm trúng đích: trastuzumab (nếu có tăng thụ thể tyrosine kinase Her2), ramucirumab (nhắm vào thụ thể VEGFR-2, nếu có tăng VEGF).
- Điều trị miễn dịch: pembrolizumab (khóa thụ thể PD-1 trên tế bào bạch cầu nếu PD-L1 dương tính ở khối u.

3.4. Phác đồ điều trị ung thư vú

Phẫu thuật và xạ trị là lựa chọn đầu tiên để điều trị ung thư vú. Ba đích tác động quan trọng thường được nhắm đến trong điều trị ung thư vú là thụ thể estrogen (ER), thụ thể progesterone (PR) và thụ thể HER2. Trong ung thư vú giai đoạn đầu, phẫu thuật có thể kết hợp với điều trị nội tiết tố bổ trợ trong vòng 5 - 10 năm bằng tamoxifen - chất điều vận trên thụ thể estrogen (ER modulator) hoặc có thể dùng chất ức chế aromatase (anastrozole, exemestane) đối với phụ nữ đã mãn kinh. Ở các giai đoạn ung thư đã tiến triển, ngoài điều trị hormone, phẫu thuật cần được kết hợp với các kháng thể chọn lọc trên đích tác động trastuzumab, pertuzumab nếu HER2 dương tính, hoặc các chất độc tế bào (nhóm anthracycline, taxane hoặc nhóm alkyl hóa) nếu HER âm tính (bộ ba âm tính ER-, PR-, HER2-). Các phác đồ ưu tiên:

- Nếu HER2 âm tính: phác đồ 4AC-4P (doxorubicin/cyclophosphamide sau đó taxane như paclitaxel). A - kháng sinh nhóm anthracycline: doxorubicin, C-cyclophosphamide: tác nhân alkyl hóa nhóm nitrogen mustard, P - paclitaxel.
- Nếu HER2 dương tính: trastuzumab, phác đồ 4AC-4P (doxorubicin/cyclophosphamide sau đó paclitaxel).

Ở giai đoạn di căn, bệnh không thể chữa khỏi hoàn toàn, điều trị để giảm triệu chứng và nâng cao chất lượng cuộc sống. Các lựa chọn bao gồm thuốc điều trị nội tiết (tamoxifen, fulvestrant) kết hợp với chất ức chế CDK 4/6 (ribociclib), ức chế mTOR (everolimus), thuốc ức chế PI3K (alpelisib) nếu gen này có đột biến. Trong trường hợp HER2 dương tính, các kháng thể kháng HER2 (trastuzumab, pertuzumab) luôn là lựa chọn đầu tay. Nếu bệnh nhân có PD-L1 dương tính, có thể xem xét dùng thuốc kháng PD-L1 (atezolizumab) (3128/QĐ-BYT).

3.5. Ung thư đại tràng

Hóa trị dùng để bổ trợ trước khi phẫu thuật hoặc điều trị cải thiện chất lượng sống cho bệnh nhân. Các phác đồ tiêu chuẩn hay sử dụng là XELOX (capecitabine, oxaliplatin) và FOLFOX (oxaliplatin, leucovorin, 5-FU). Nếu thể trạng bệnh nhân yếu chỉ nên dùng capecitabine đơn trị. Tùy vào loại đột biến ở khối u, các ví dụ về liệu trình điều trị có thể như sau (2549/QĐ-BYT):

- Ras không đột biến: XELOX (capecitabine, oxaliplatin) ± cetuximab (nhắm EGFR).
- Ras đột biến: XELOX (capecitabin, oxaliplatin) ± bevacizumab (khóa VEGF-A).
- B-raf đột biến: tiên lượng xấu, lựa chọn FOLFOXIRI (leucovorin, 5-FU, oxaliplatin, irinotecan) + bevacizumab (khóa VEGF-A).

Regorafenib hoặc liệu pháp miễn dịch có thể được bổ sung nếu điều trị bước đầu không đạt hiệu quả.

Qua các phác đồ nêu cho thấy việc điều trị ung thư cần kết hợp nhiều nhóm thuốc khác nhau. Điều trị trúng đích luôn là lựa chọn ưu tiên nếu đích tác động được phát hiện ở khối u. Các thuốc hóa trị liệu cổ điển sẽ là lựa chọn tiếp theo nếu không phát hiện được sự gia tăng hoạt động của các đích tác động tiềm năng.

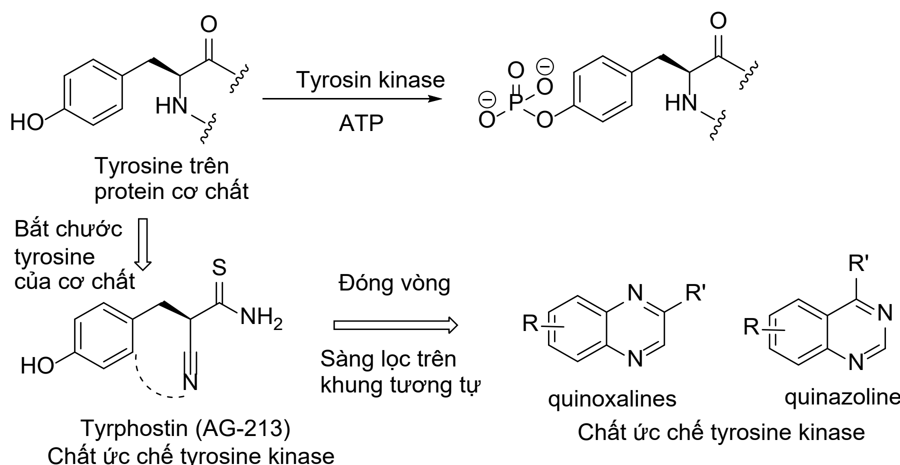
4. CÁC NHÓM THUỐC TRỊ LIỆU NHẮM TRÚNG ĐÍCH

4.1. Thuốc ức chế tyrosine kinase

Enzyme tyrosine kinase hoạt động bằng cách gắn nhóm phosphate ($-O-PO_3^{2-}$) lên amino acid tyrosine của các protein khác, dẫn đến việc hoạt hóa hoặc ức chế hoạt động của các protein này. Nhóm phosphate được enzyme lấy từ đồng cơ chất ATP [8,10].

Thuốc phân tử nhỏ ức chế kinase (tyrosine kinase inhibitor, TKI) thường tác động lên vị trí gắn kết của ATP. Do hầu hết các kinase đều sử dụng cơ chất ATP nên vị trí này thường được bảo tồn ở nhiều loại kinase khác nhau và rất khó để đạt được ức chế chọn lọc trên một vài kinase nhất định. Các thuốc nhóm này thường ức chế nhiều hơn 1 kinase, ví

dụ như sorafenib ức chế VEFGR (tyrosine kinase), c-Raf (serine/threonine kinase), c-Kit, PDGFR (tyrosine kinase) hay imatinib ức chế Abl-Bcr, PDGFR.



Hình 9.3. Việc phát triển các chất ức chế tyrosine kinase bắt nguồn từ việc bắt chước cơ chất tyrosine

Các TKI đầu tiên được thiết kế với cấu trúc tương tự như tyrosine để cạnh tranh với cơ chất của enzyme này (Hình 9.3). Tuy nhiên, quá trình phát triển sau này cho ra các TKI với nhân quinoxaline và quinazoline với cơ chế chủ yếu là cạnh tranh với vị trí gắn của đồng cơ chất ATP [8].

Có nhiều tài liệu phân chia các TKI thành 3 loại dựa vào cách gắn kết lên đích tác động.

- Loại 1: ức chế tyrosine kinase ở trạng thái hoạt động (DFG-in conformation), cơ chế cạnh tranh với ATP (erlotinib, crizotinib).

- Loại 2: ức chế tyrosine kinase ở trạng thái không hoạt động (DFG-out conformation), cạnh tranh với ATP (sorafenib, imatinib).

- Loại 3: ức chế không cạnh tranh với ATP (trametinib ức chế MEK1/2).

DFG hay Aspatate-Phenylalanin-Glycin là một trình tự quan trọng trong việc điều hòa hoạt tính kinase của enzyme [11]. Aspatate của DFG tạo phức với ion Mg^{2+}, có vai trò trong việc gắn kết với các nhóm phosphate của ATP. Phenylalanine của DFG cũng ảnh hưởng lớn tới cấu trúc túi gắn kết của các TKI [11]. Vị trí của trình tự DFG thường được dùng để xác định dạng hoạt động hay không hoạt động của kinase trong cấu trúc đồng kết tinh kinase-TKI.

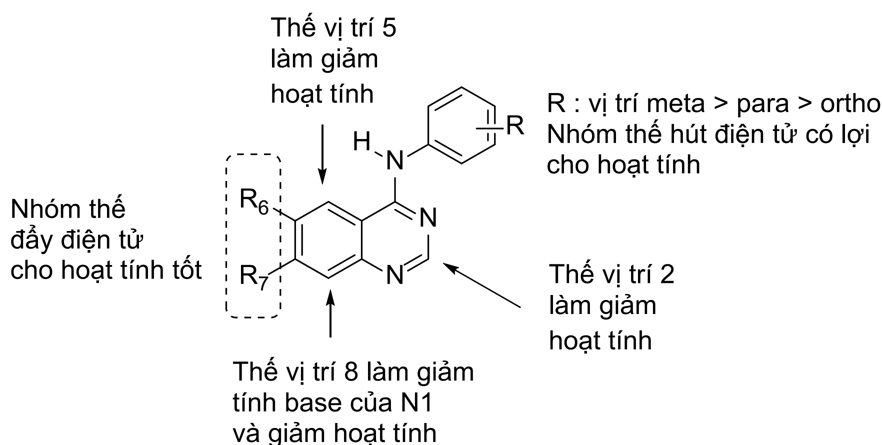
4.1.1. Thuốc ức chế EGFR

- Thế hệ 1: gefitinib, erlotinib, iconotinib, lapatinib nhắm vào EGFR đột biến mất đoạn exon 19 hoặc đột biến điểm L858R, vẫn giữ ái lực cao với EGFR tự nhiên.

- Thế hệ 2: afatinib là chất ức chế tạo liên kết cộng hóa trị với C797, cửa sổ trị liệu hẹp hơn. Các thuốc khác như canertinib, pelitinib, neuratinib đang được thử nghiệm lâm sàng.

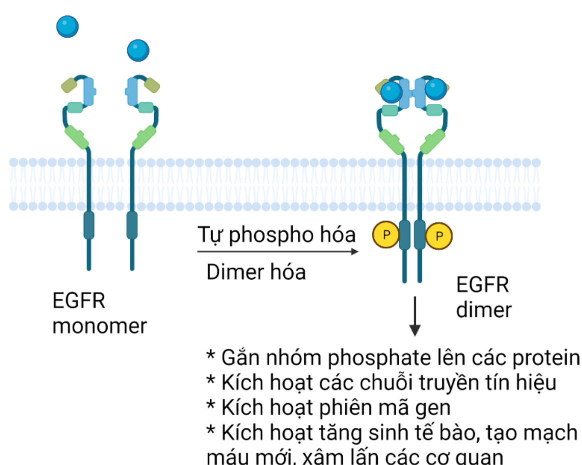
- Thế hệ 3: osimertinib, không chứa nhân 4-anilinoquinazoline, (điều trị đột biến đề kháng T790M), chất ức chế tạo liên kết cộng hóa trị với C797. Ức chế chọn lọc EGFR đột biến, giảm ái ực với EGFR tự nhiên.

Mối quan hệ cấu trúc tác dụng của các chất ức chế EGFR nhân quinazoline (gefitinib, erlotinib, afatinib) được tóm tắt trong Hình 9.4.



Hình 9.4. Mối quan hệ cấu trúc – hoạt tính kháng EGFR của các dẫn xuất 4-anilinoquinazolines [8,12,13]

Thụ thể của yếu tố phát triển tế bào biểu mô (epidermal growth factor receptor, EGFR) là một loại thụ thể tyrosine kinase ở màng tế bào, thường bị đột biến (mất đoạn exon 19 - tăng hoạt động của EGFR, đột biến điểm L851R) hoặc biểu hiện nhiều ở ung thư phổi, ung thư đại tràng, ung thư máu dòng tủy (tế bào ung thư có nguồn gốc từ tủy xương, myeloid leukemia), ung thư vú và 50% trường hợp ung thư não (glioblastoma) [8]. Hiện tượng tăng biểu hiện EGFR xảy ra ở 60% các trường hợp ung thư phổi ở người châu Á và 10 - 30% ở người da trắng. Thụ thể EGFR có 2 loại ligand nội sinh, EGF (epidermal growth factor) và TGF-α (transforming growth factor α). Khi các ligand này gắn lên domain ngoại bào của thụ thể EGFR, thụ thể này sẽ dimer hóa và tự gắn nhóm phosphate để hoàn thiện quá trình hoạt hóa. EGFR hoạt hóa sẽ kích hoạt các chuỗi truyền tín hiệu nội bào như (chuỗi Ras/Raf/MEK), dẫn đến việc dịch mã các gene cần thiết để tế bào ung thư sinh sôi, xâm lấn (Hình 9.5).

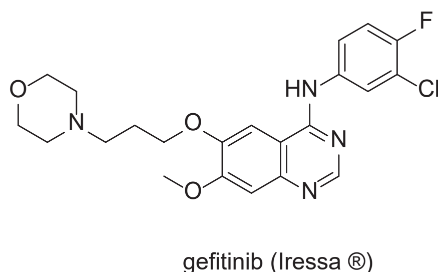


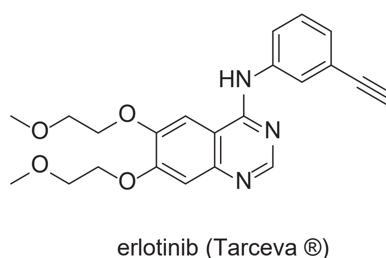
Hình 9.5. Cơ chế hoạt hóa của thụ thể EGFR. Thụ thể được kích hoạt bởi ligand sẽ dimer hóa và tự gắn nhóm phosphate để kích hoạt domain kinase nội bào. Domain kinase sau khi được kích hoạt sẽ phospho hóa (phosphorylate) các protein truyền tín hiệu để kích hoạt sự phiên mã và tăng sinh tế bào. Hình được tạo với biorender.com

Có 2 nhóm thuốc ức chế EGFR bao gồm các thuốc phân tử nhỏ và các kháng thể đơn dòng như cetuximab, panitumumab.

4.1.1.1. Thuốc phân tử nhỏ ức chế EGFR thế hệ 1

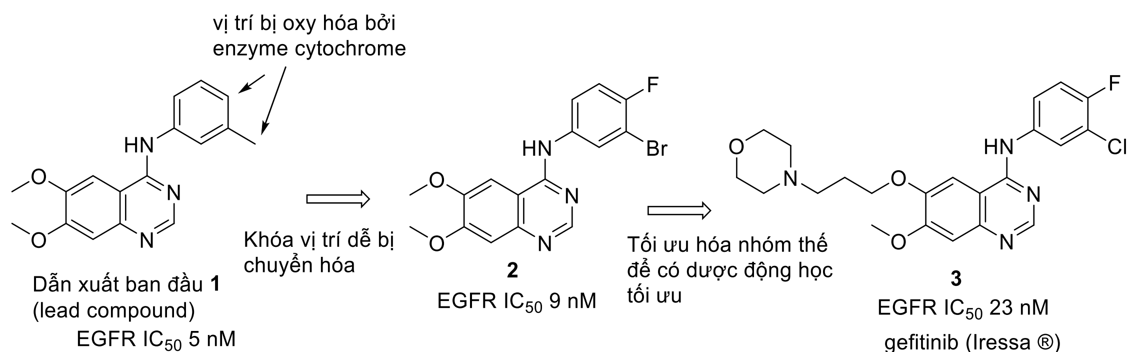
Gefitinib, erlotinib - chỉ định cho ung thư phổi NSCLC có tăng sinh hoặc đột biến EGFR.





Gefitinib là chất ức chế EGFR đầu tiên được cấp phép để điều trị ung thư phổi thể NSCLC. Do hiện tượng đề kháng thuốc gia tăng (do đột biến EGFR) cùng với độc tính trên phổi, thuốc được thay thế bởi dẫn xuất tương tự **erlotinib.** Quá trình phát triển của gefitinib bắt đầu từ việc sàng lọc các dẫn xuất của 4-anilinoquinazoline (Hình 9.6, Bảng 9.4). Các nhóm thế hút điện tử nhẹ ở trên vị trí meta và para trên nhóm thế 4-anilino có lợi cho hoạt tính [12]. Ở chất ban đầu **1,** vị tri *para* và nhóm methyl bị chuyển hóa bởi các enzyme cytochrome cho ra chất chuyển hóa có độc tính (quinoneimine) [14]. Do đó 2 vị trị này được khóa bởi các nhóm thế halogen như F và Cl (Hình 9.6). Trên nhân

quinazoline, các nhóm thế đẩy điện tử (-OMe, $-NH_2$) ở hai vị trí 6, 7 cho dẫn xuất hoạt tính tốt [12]. Khi gắn kết với enzyme, hai vị trí này hướng ra vùng không gian trống trên enzyme, tương tác với môi trường nước và có thể chấp nhận các nhóm thế có kích thước thay đổi. Quá trình tối ưu nhóm thế trên vị trí 6, 7 cho ra gefitinib với hoạt tính tốt và thời gian bán thải tương đối dài, phù hợp cho việc điều trị.



Hình 9.6. Tóm tắt quy trình phát triển gefitinib

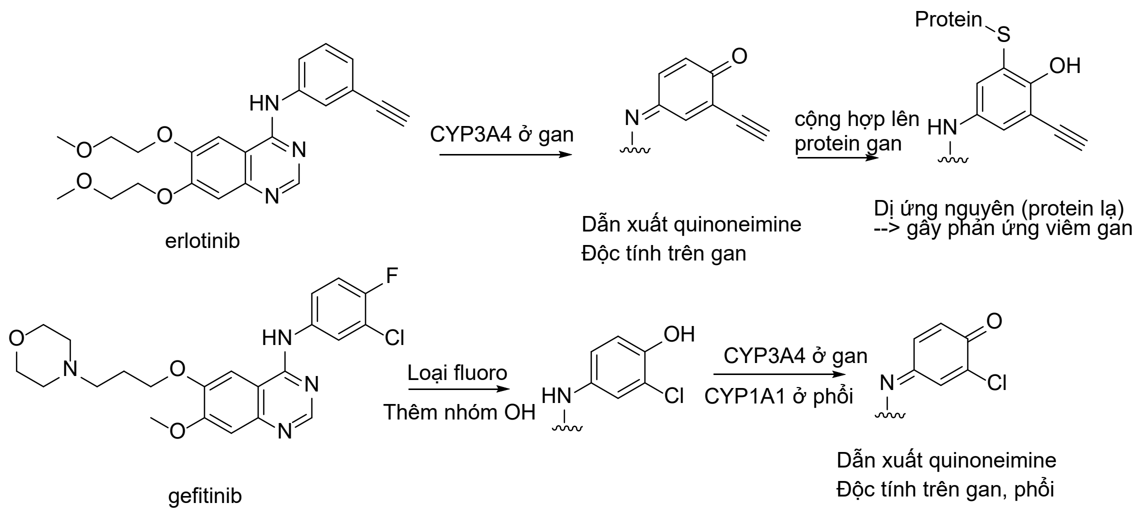
Bảng 9.4. Hoạt tính các dẫn xuất của gefininib trên enzyme EGFR và tế bào ung thư

Dẫn xuất	In vitro		Nồng độ trong máu (μM) (liều 200 mg/kg P.O trên chuột)		
	TKI (μM)	KB2 (μM)	2 h	6 h	24 h
1	0.005	0.05	Thời gian bán hủy khoảng 1h		
2	0.009	0.08	38	16	0.3
Gefitinib	0.023	0.08	6.8	38	5.7

TKI: hoạt tính ức chế enzyme EGFR (nM), KB2: hoạt tính ức chế sự phát triển của tế bào KB được kích thích với EGF [14]

Quá trình phát triển của **erlotinib** (Tarceva ®) không được công bố rộng rãi. Erlotinib có IC_{50} trên EGFR 0.002 μM và ức chế tế bào ung thư với IC_{50} 0.02 μM [15].

Tác dụng phụ: do gefitinib và erlotinib ức chế cả EGFR trên tế bào bình thường nên gây tác dụng trên da như nổi mẩn và tiêu chảy. Các độc tính ít gặp khác bao gồm độc tính trên gan và phổi. **Erlotinib** có thể gây độc tính nghiêm trọng trên gan khi bị chuyển hóa nhiều bởi CYP3A4 (dùng chung với các thuốc cảm ứng 3A4, thuốc lá) tạo thành dẫn xuất quinoneimine (Hình 9.7). Quinoneimine nếu tạo ra nhiều và không bị loại bỏ kịp bởi glutathione, có thể phản ứng với protein ở gan và gây viêm gan nghiêm trọng. **Gefitinib** mặc dù có nhóm thế fluoro ở vị trí *para* nhưng vẫn có thể bị khử fluoro và oxy hóa thành quinoneimine ở gan (CYP3A4) và phổi (CYP1A1), gây độc tính ở hai cơ quan này.



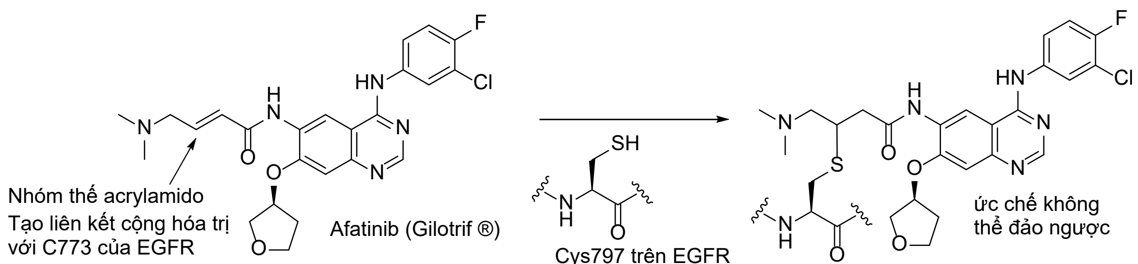
Hình 9.7. Chuyển hóa của erlotinib và gefitinib.

Đề kháng: các đột biến EGFR như T790M phá bỏ một số tương tác của enzyme với nhân quinoxazoline. Hơn nữa, các TKI thế hệ đầu cạnh tranh với ATP ở túi gắn kết. Trong khi ATP là cơ chất quan trọng nhiều enzyme, là nguồn năng lượng cho tế bào, do đó nồng độ ATP nội bào tương đối cao, làm giảm khả năng ức chế của TKI.

4.1.1.2. Thuốc phân tử nhỏ ức chế EGFR thế hệ 2

Afatinib - chỉ định cho ung thư phổi NSCLC có tăng sinh hoặc đột biến EGFR.

Nhằm vượt qua sự đề kháng do enzyme đột biến và sự giảm hiệu lực do nồng độ khá cao của ATP nội bào (1-10 mM), các chất ức chế EGFR thế hệ thứ 2 được thiết kế để tạo liên kết cộng hóa trị với EGFR (ức chế không đảo nghịch) để tăng ái lực và khả năng ức chế enzyme (Hình 9.8). Hàng loạt dẫn xuất mới được ra đời, trong đó có afatinib. Trên afatinib, nhóm thế ở vị trí số 6 trên nhân quinoxazoline là dẫn xuất của acrylamide (Michael acceptor) được thiết kế để phản ứng với cysteine 797 của EGFR. Một khi gắn lên EGFR, thụ thể sẽ bị bất hoạt vĩnh viễn (cho đến khi thụ thể mới được tế bào tổng hợp để thay thế (khoảng > 24 giờ).

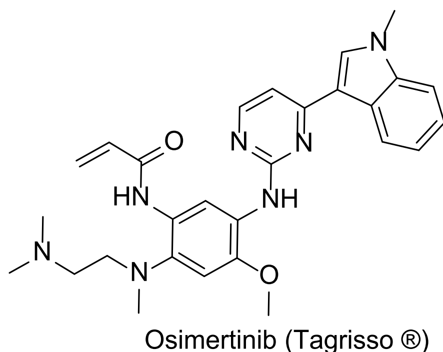


Hình 9.8. Cơ chế tạo liên kết cộng hóa trị của afatinib

Tác dụng phụ: Một điểm yếu của các chất ức chế tạo liên kết cộng hóa trị là chúng có thể phản ứng với các protein hoặc peptide khác có nhóm thế ái nhân (thiol, alcohol, amine), dẫn đến khả năng chọn lọc kém hơn trên đích tác động. Các chất ức chế EGFR thế hệ 2 có độc tính lớn hơn TKI thế hệ 1 do ức chế EGFR bình thường với ái lực cao. Các tác dụng phụ thường gặp là tiêu chảy và tổn thương da do tổn thương các tế bào biểu mô các cơ quan này [16].

4.1.1.3. Thuốc phân tử nhỏ ức chế EGFR thế hệ 3

Osimertinib - chỉ định cho ung thư phổi NSCLC có đột biến T790M



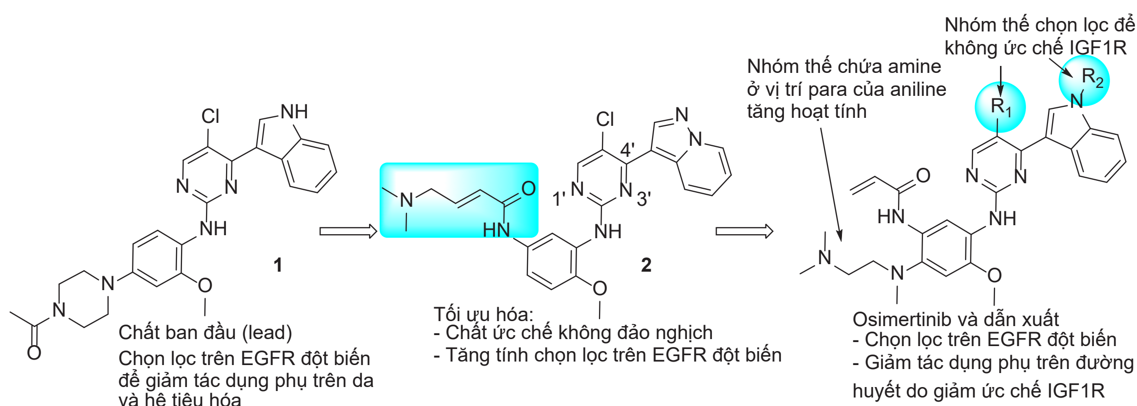
TKI thế hệ 3 vẫn là các các chất ức chế tạo liên kết cộng hóa trị với C797 của VEGF, nhưng được thiết kế chọn lọc trên EGFR đột biến và giảm ái lực lên EGFR tự nhiên (EGFR wt), nhằm giảm tác dụng phụ của thuốc [17] (Bảng 9.5).

Bảng 9.5. So sánh hoạt tính của 3 thế hệ kinase gefitinib, afatinib và osimertinib ức chế EGFR

Thuốc	Cơ chế gắn kết	EGFR wt	EGFR L859R	EGFR L858R/ T790M
Gefitinib	Ức chế cạnh tranh	3 nM	< 1 nM	155 nM
Afatinib	Ức chế không đảo nghịch	3 nM	< 1 nM	3 nM
Osimertinib	Ức chế không đảo nghịch	184 nM	12 nM	1 nM
		Giá trị IC_{50} trên thử nghiệm enzyme		

Quá trình phát triển **Osimertinib** bắt đầu bằng việc sàng lọc các chất ức chế chọn lọc EGFR đột biến [18,19]. Chất khởi nguồn (lead) là dẫn xuất ức chế thuận nghịch EGFR, có độ chọn lọc và hoạt tính tốt trên enzyme EGFR có đột biến đôi L858R/T790M (IC_{50} 9 nM). Tuy nhiên hoạt tính trên tế bào khá hạn chế (IC_{50} 770 nM), có thể do phải cạnh tranh với nồng độ ATP nội bào tương đối cao. Do đó, chất này được tối ưu hóa thành chất ức chế tạo liên kết cộng hóa trị **2** (Hình 9.9) với hoạt tính tế bào cải thiện đáng kể (IC_{50} 91

nM) (Bảng 9.6). Tuy nhiên chất **2** làm tăng đường huyết và tăng insulin máu do ức chế IGF1R, một tyrosine kinase có liên quan đến chuỗi truyền tín hiệu của thụ thể insulin. Vì lý do trên, chất **2** được tối ưu hóa, loại bỏ nhóm thế Cl trên vị trí số 5 (R_1) trên nhân pyrimidine, thay nhóm thế ở vị trí số 4′ bằng *N*-methyl-indole (Hình 9.9, Bảng 9.6). Nhóm methyl trên indole (R_2) có trò quan trọng để loại bỏ hoạt tính trên IGF1R. Mặt khác, nhóm thế chứa amine ở vị trí para của nhân aniline cho hoạt tính tốt (chất 3-5 và osimertinib).



Hình 9.9. Tóm tắt quy trình phát triển của osimertinib

Bảng 9.6. Hoạt tính của osimertinib trên các enzyme EGFR đột biến

Chất		Enzyme EGFR wt	Enzyme EGFR L858R/T790M	Tế bào EGFR L858R/T790M	Enzyme IGF1R
1		790 nM	9 nM	770 nM	--
	R_1/R_2	Tế bào EGFR wt	Tế bào EGFR mất đoạn exon 19	Tế bào EGFR L858R/T790M	Enzyme IGF1R
2		> 20 000 nM	388 nM	91 nM	4 nM
3	Cl/H	11 nM	0.6 nM	0.2 nM	7 nM
4	H/H	33 nM	2 nM	2 nM	263 nM
5	Cl/Me	58 nM	2 nM	2 nM	40 nM
Osimertinib	H/Me	480 nM	17 nM	15 nM	2900 nM
		Giá trị IC_{50} ức chế enzyme hoặc ức chế tế bào có EGFR.			

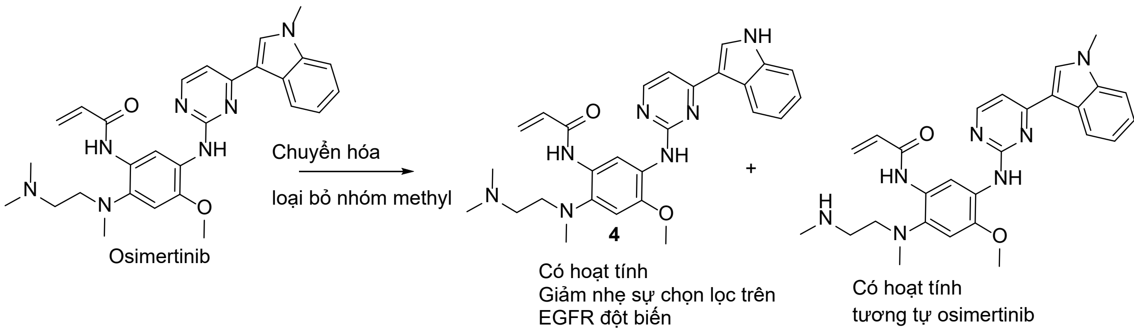
Các tác dụng phụ trên da và hệ tiêu hóa của osimertinib đã giảm đáng kể so với các TKI thế hệ trước đó, đặc biệt là thế hệ 2 (Bảng 9.7) [17].

Bảng 9.7. So sánh tác dụng phụ của 3 thế hệ TKI ức chế EGFR

Thuốc	Tiêu chảy (tất cả các mức độ)	Tiêu chảy nặng (mức độ 3 - 5)	Tổn thương da (tất cả các mức độ)	Tổn thương da nặng (mức độ 3 - 5)
Gefitinib	46.6%	3.8%	66.2%	3.1%
Erlotinib	57%	5%	80%	13%
Afatinib	95.2%	14.4%	89.1%	16.2%
Osimertinib	41%	1%	34%	1%

Thuốc được chỉ định khi ung thư đề kháng với TKI nhắm EGFR thế hệ 1 và 2.

Tác dụng phụ: các tác dụng phụ phổ biến bao gồm tiêu chảy, kích ứng da, khô da, nhiễm trùng kẽ móng tay. Tác dụng phụ tăng đường huyết chỉ xảy ra ở < 1% bệnh nhân (có thể do dẫn xuất chuyển hóa). Chất bị chuyển hóa loại bỏ nhóm methyl, cho ra dẫn xuất có hoạt tính tương tự (Hình 9.10).



Hình 9.10. Chuyển hóa của osimertinib

Đề kháng: hiện nay đã xuất hiện các EGFR đột biến C797S đề kháng với Osimertinib [20]. Chất ức chế EGFR không cạnh tranh với ATP đang được phát triển để vượt qua sự đề kháng này.

4.1.1.4. Kháng thể ức chế EGFR

Cetuximab - chỉ định cho ung thư phổi, ung thư vùng đầu cổ.

Cetuximab gắn lên thụ thể EGFR với ái lực và độ chọn lọc cao, ngăn thụ thể bị kích hoạt bằng cách cạnh tranh với các ligand tự nhiên như EGF hay TGF-α. Ngoài ra cetuximab còn kích hoạt quá trình tạo thành endosome để loại bỏ thụ thể ở màng tế bào, chuyển vào phân hủy ở các proteasome.

4.1.2. Thuốc ức chế VEGFR và VEGF

Bảng 9.8. Các thuốc tác động lên VEGFR và VEGF

Thuốc phân tử nhỏ ức chế đa kinase (bao gồm VEGFR)	
Thế hệ 1	Sorafenib, regorafenib, sunitinib
Thế hệ 2	Pazopanib, axitinib, vandetanib, cabozantinib, lenvatinib
Kháng thể ức chế VEGF/VEGFR	
Bevacizumab	Kháng thể đơn dòng (monoclonal antibody) ức chế VEGF-A
Aflibercept	Protein tái tổ hợp một phần của thụ thể VEGFR1/2, chỉ chứa domain gắn kết VEGF, do đó cạnh tranh với các thụ thể này trong việc gắn kết và ức chế VEGF
Ramucirumab	kháng thể đơn dòng ức chế VEGFR2, thụ thể đóng vai trò chủ yếu trong việc kích hoạt hoạt tính sinh học của VEGF-A

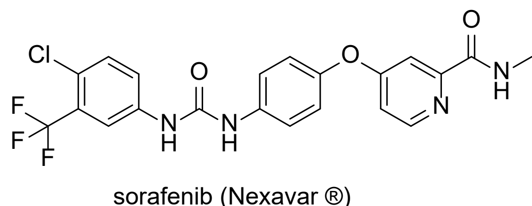
Thụ thể VEGFR (vascular endothelial growth factor receptor) là thụ thể của protein VEGF đóng vai trò quan trọng trong quá trình hình thành các mạch máu mới. Đối với các khối u rắn, việc phát triển của tế bào ung thư đòi hỏi nguồn dinh dưỡng và oxy với cường độ cao. Khi khối u còn nhỏ, các nguồn dinh dưỡng tại chỗ có thể đáp ứng nhu cầu này. Tuy nhiên khi đạt được một kích thước nhất định và quá trình phân bào bị hạn chế vì không đủ nguồn cung cấp, tế bào ung thư thích nghi bằng nhiều cách, trong đó có việc tiết các peptide và protein, như VEGF để thúc đẩy việc tạo ra các mạch máu mới [8].

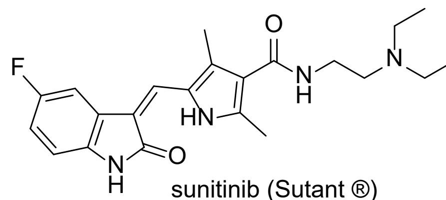
Có nhiều loại VEGF khác nhau: VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, PIGF (placenta growth factor), trong đó VEGF-A đóng vai trò chủ đạo trong quá trình tạo mạch máu mới (angiogenesis) và tăng tính thấm của các mạch máu đã có (vascular permeability). Có 3 loại thụ thể VEGFR: VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, trong đó VEGF-A gắn được lên cả VEGFR1 và VEGFR2. Trong khi đó VEGF-B và PIGF chỉ gắn lên VEGF1. VEGF-C và D chỉ gắn lên VEGFR3 và đóng vai trò trong quá trình tăng sinh mạch bạch huyết. Thụ thể VEGFR2 có ái lực với VEGF-A thấp hơn so với VEGFR1 nhưng hoạt tính tyrosine kinase VEGFR2 cao hơn do đó VEGFR2 đóng vai trò chủ yếu cho việc kích hoạt các hoạt tính sinh học liên quan đến VEGF-A [21].

VEGF-A biểu hiện ở nhiều ở các khối u và mức độ biểu hiện tương quan với khả năng xâm, lấn, di căn và tái phát của nhiều loại ung thư khác nhau [21]. Ở vài loại ung thư đề kháng với hóa trị liệu và có tăng sinh mạch nhiều như ung thư gan, thận, các chất ức chế VEGFR như sorafenib, sunitinib cho hiệu quả trị liệu tích cực.

Các thuốc nhắm vào VEGF/VEGFR có thể chia thành 2 nhóm: các phân tử nhỏ ức chế VEGFR, kháng thể ức chế VEGF hoặc VEGFR [22]. Trong nhóm thuốc phân tử nhỏ, sorafenib và sunitinib là các thuốc đầu tiên được phát triển và ứng dụng trong lâm sàng.

4.1.2.1. Chất ức chế đa kinase ức chế VEGFR thế hệ đầu



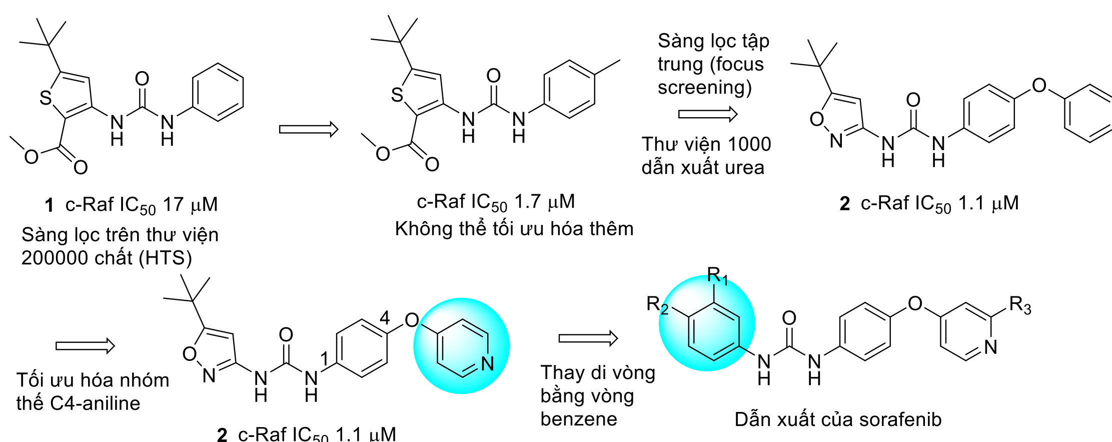


Sorafenib

Chỉ định: ung thư gan (hepatocellular carcinoma), ung thư thận (renal cell carcinoma). Liều 400 mg (dạng muối tosylate) ngày 2 lần, uống khi đói. Khi suy chức năng gan ở mức độ trung bình liều giảm còn 200 mg.

Sorafenib là một dẫn xuất urea. Mặc dù được phân loại trong nhóm các chất ức chế VEGFR nhưng sorafenib ức chế nhiều kinase khác (PDGFR, c-Raf, c-Kit, FLT3, p38) [22]. Quá trình phát triển ban đầu của sorafenib nhắm vào việc ức chế c-Raf, một protein serine/threonine kinase nằm trong chuỗi truyền tín hiệu Ras/Raf/MEK/ERK, đóng vai trò quan trọng trong việc điều hòa sự phân chia và chết đi của tế bào [23].

Dẫn xuất ban đầu trong quá trình phát triển sorafenib là 3-thienyl urea **1** (Hình 9.11), thu được từ việc sàng lọc (HTS) trên thư viện các chất [23]. Tuy nhiên quá trình tối ưu hóa dẫn xuất **1** không đem lại kết quả khả quan. Điều này dẫn đến đợt sàng lọc thứ 2 tập trung trên các dẫn xuất urea để tìm ra khung cấu trúc mới tốt hơn **2** (Hình 9.11). Tối ưu hóa khung cấu trúc của **2** cho ra sorafenib. Các đặc điểm cấu trúc quan trọng trên sorafenib bao gồm: nhóm thế chlo ở vị trí para (R2) giúp tăng 10 lần hoạt tính của chất (**5,** IC_{50} 46 nM so với **4,** IC_{50} 460 nM) (Bảng 9), nhóm thế CF_3 ở vị trí meta (R1) giúp cho hoạt tính tốt (chất **6** không có CF_3, IC_{50} 450 nM). Trên nhân pyridine, nhóm thế amide ở R_3 như *N*-methyl amido giúp tăng hoạt tính thêm 4 lần và cho ra sorafenib với IC_{50} 12 nM [24]. Dựa vào cấu trúc tinh thể cho thấy nhân pyridine này gắn kết với vị trí gắn ATP của c-Raf. Toàn bộ quá trình phát triển từ chất đầu tiên đến khi được chấp thuận đưa ra thị trường mất 11 năm [23].



Hình 9.11. Quy trình phát triển của sorafenib

Bảng 9.9. Hoạt tính của sorafenib và các dẫn xuất lên kinase c-Raf

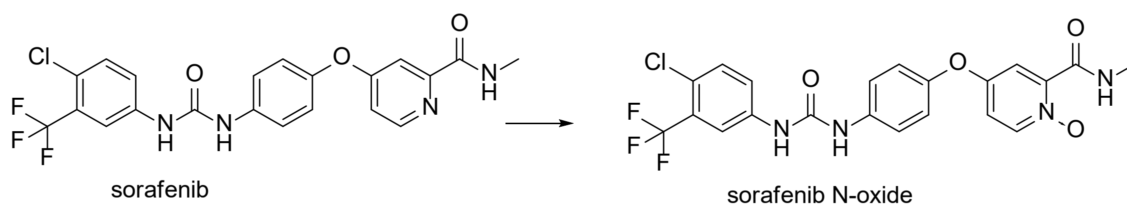
Hợp chất	R_1	R_2	R_3	IC_{50} c-Raf (nM)
4	CF_3	H	H	460
5	CF_3	Cl	H	46
6	Br	Cl	H	450
Sorafenib	CF_3	Cl	-(C=O)-NH-CH_3	12

Sau đó người ta phát hiện ra rằng sorafenib còn ức chế nhiều kinase khác trong đó có VEGFR1/2 với IC_{50} trong khoảng dưới 100 nM (Bảng 9.10). Cơ chế tác động vẫn là cạnh tranh với vị trí gắn kết của ATP. Các kinase này đều đóng vai trò quan trọng trong việc điều hòa hoạt động phân bào, tăng sinh mạch máu của tế bào ung thư.

Bảng 9.10. Hoạt tính của sorafenib trên các kinase khác nhau

IC_{50}	c-Raf	VEGFR1	VEGFR2	PDGFRβ của chuột	Flt-3	c-Kit	P38
Sorafenib	12 nM	26 nM	90 nM	57 nM	33 nM	68 nM	38 nM

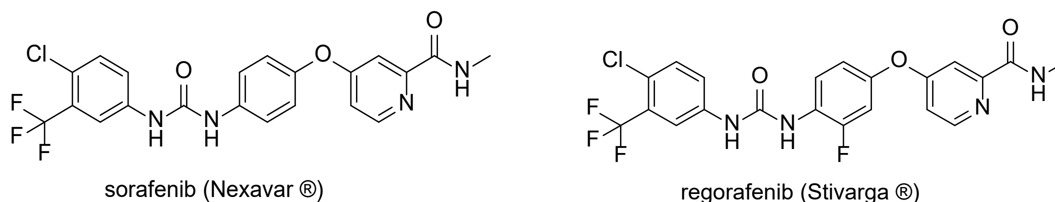
Thuốc được chuyển hóa qua gan bởi CYP3A4 tạo thành sorafenib *N*-oxide với hoạt tính không đổi (Hình 9.12). Thuốc cũng ức chế các CYP như 3A4, 2D6, 2B6, 2C19 nhưng chưa phát hiện được tương tác với các thuốc chuyển hóa bởi enzyme này [25].



Hình 9.12. Chuyển hóa của sorafenib ở gan

Tác dụng phụ: do ức chế nhiều kinase, sorafenib có một số tác dụng phụ nhất định, thường là trên da. Các tác dụng phụ được báo cáo từ thử nghiệm lâm sàng TARGET như sau: nổi mẩn 40%, mẫn cảm các vùng da hay va chạm như vị trí mang giày dép, vị trí đeo đồ vật trên tay (hand-foot skin reaction) 30%, tiêu chảy 43% và mệt mỏi (37%) [23].

Regorafenib



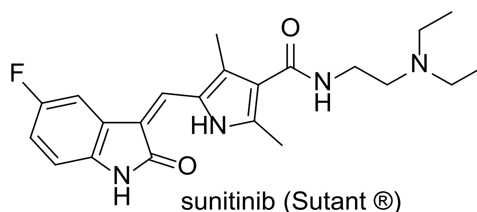
Regoragenib có cấu trúc tương tự như sorafenib chỉ khác 1 nhóm fluoro ở nhân thơm trung tâm. Regorafenib có phổ hoạt tính và dược động học tương tự sorafenib nhưng khả năng ức chế các kinase cao hơn (Bảng 9.11).

Bảng 9.11. So sánh hoạt tính của regorafenib và sorafenib

IC_{50}	VEGFR1	VEGFR2	VEGFR3	TIE-2	PDGFR	GFFR1	BRAF
Sorafenib	--	15 nM	20 nM	--	57 nM	580 nM	22 nM
Regorafenib	13 nM	4.2 nM	46 nM	311 nM	22 nM	202 nM	28 nM

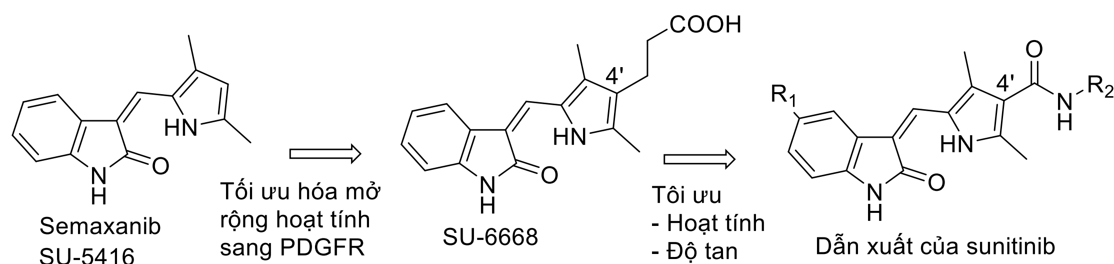
Hiệu quả của regorafenib trên các khối u đề kháng sorafenib không rõ ràng tuy nhiên thuốc vẫn được xem là lựa chọn thứ 2 sau khi đã điều trị thất bại với sorafenib.

Sunitinib



Chỉ định: ung thư thận, ung thư tụy, ung thư mô liên kết hệ tiêu hóa (GIST) kháng imatinib. Liều từ 50 mg (dạng muối maleate) trở lên, tăng dần hoặc giảm dần (+/-12.5 mg) đến khi có sự cân bằng giữa hiệu quả trị liệu và độc tính.

Quá trình phát triển sunitinib bắt nguồn từ quá trình sàng lọc HTS (high throughput screening) để xác định các nhóm chất có thể ức chế VEGFR. Trong các chất có hoạt tính, có khá nhiều chất có nhân indolin-2-one [8,26], trong các chất này có semaxanib có hoạt tính kháng VEGFR với IC_{50} 1.2 μM (Hình 9.13, Bảng 9.12). Tối ưu hóa semaxanib để mở rộng phổ kháng kinase sang cả PDGFR cho ra SU-6668 có nhóm thế proprionic trên vị trí C4′ của nhân pyrrole. Cả semaxanib và SU-6668 đều được đưa vào thử nghiệm lâm sàng nhưng kết quả thất bại ở pha III và pha II do thiếu hiệu quả. Nguyên nhân có thể do độ tan kém (độ tan dưới 20 μg/mL ở pH 6) và dược động học không đạt yêu cầu, đồng thời các bệnh nhân được chọn vào trong thử nghiệm chưa được sàng lọc kỹ càng [26].



Hình 9.13. Quy trình phát triển của sunitinib

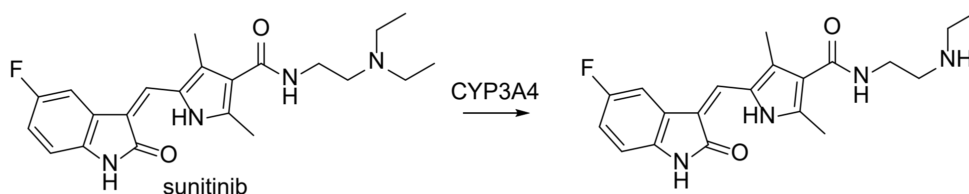
Bảng 9.12. So sánh hoạt tính của sunitinib và các chất trung gian trong quá trình phát triển

	R_1	R_2	**VEGFR2**	**PDGFRβ**	**Độ tan (μg/mL) ở 22 °C**	
			IC_{50} μM	**IC_{50} μM**	pH2	pH6
Semaxanib			1.23	22.9	< 1	< 1
SU-6668			2.4	0.06	< 5	18
1	H	$(CH_2)_2N(C_2H_5)_2$	0.050	0.017	3022	511
Sunitinib	F	$(CH_2)_2N(C_2H_5)_2$	0.080	0.002	2582	364

Để cải thiện độ tan của các chất, các nhóm thế có chứa amine bậc 3 (R_2) đã được thử nghiệm ở vị trí C4’ của nhân pyrrole (Hình 9.13, Bảng 9.12) [27]. Vị trí này được chọn lựa vì cấu trúc tính thể của SU-6668 với FGF-R1 (một kinase với túi gắn kết ATP rất giống VEGFR) cho thấy nhóm thế ở C4’ hướng ra một vùng không gian mở, thân nước và có thể dễ dàng tiếp nhận nhiều nhóm thế khác nhau. Các nhóm thế amine cải thiện rõ ràng độ tan của hoạt chất, cả chất **1** và sunitinib có độ tan từ 364 tới 511 μg/mL ở pH 6 và trên 2000 μg/mL ở pH 2. Mặt khác, nhóm thế này cũng tăng hoạt tính kháng kinase VEGFR2 và PDGFR lên từ 30 - 50 lần. Ví dụ như trên VEGFR, SU-6668 có IC_{50} 2.4 μM

nhưng sunitinib có IC_{50} tới 0.08 μM. Mặt khác, nhóm thế fluor ở vị trí 5 (R1) của nhân indolin-2-one giúp cải thiện 8 lần hoạt tính trên PDGFR (sunitinib IC_{50} 0.002 μM so với chất **1** có IC_{50} 0.017 μM) và giảm bớt độc tính trên các tế bào bình thường [27].

Thuốc được chuyển hóa qua gan bởi CYP 3A4 tạo thành dẫn xuất mất nhóm alkyl nhưng vẫn có hoạt tính (Hình 9.14). Thời gian bán thải của sunitinib và chất chuyển hóa có thể lên tới 60 - 100 giờ. Chất chuyển hóa liên hợp (metabolism phase II) có màu vàng nhạt có thể ảnh hưởng đến màu da và các dịch cơ thể.



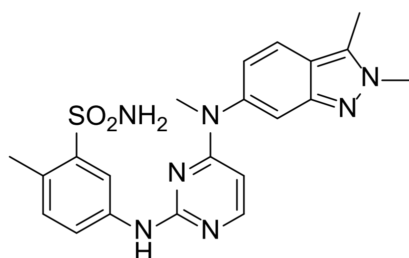
Hình 9.14. Chuyển hóa sunitinib bởi CYP3A4

Tác dụng phụ: phần lớn tác dụng phụ thường gặp là trên hệ tiêu hóa, hội chứng "hand-foot skin reaction" và mệt mỏi. Các độc tính nặng trên gan hoặc các độc tính trên hệ tim mạch có thể gặp nhưng ít phổ biến hơn. Khoảng 20% bệnh nhân không theo được liệu trình điều trị do tác dụng phụ của thuốc [25].

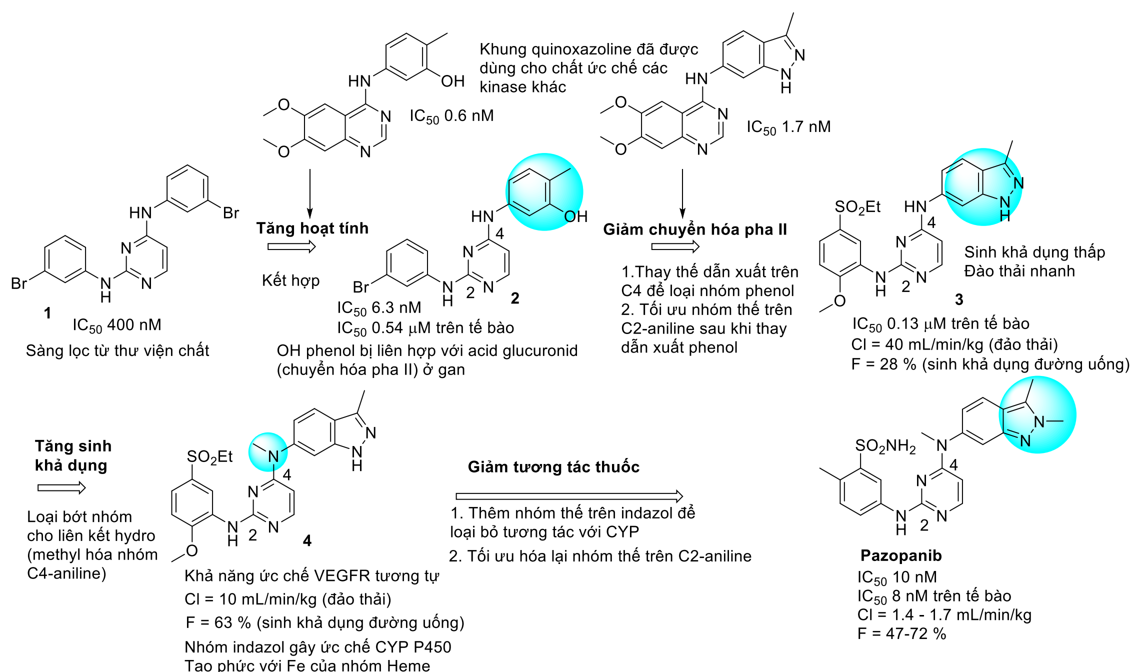
4.1.2.2. Chất ức chế đa kinase ức chế VEGFR thế hệ 2

Các chất thế hệ 2 có ái lực cao hơn và chọn lọc hơn trên VEGFR. Tuy nhiên đây vẫn là các chất ức chế đa kinase vì việc ức chế một số kinase khác như PDGFR giúp tăng hoạt tính trên tế bào ung thư.

Pazopanib



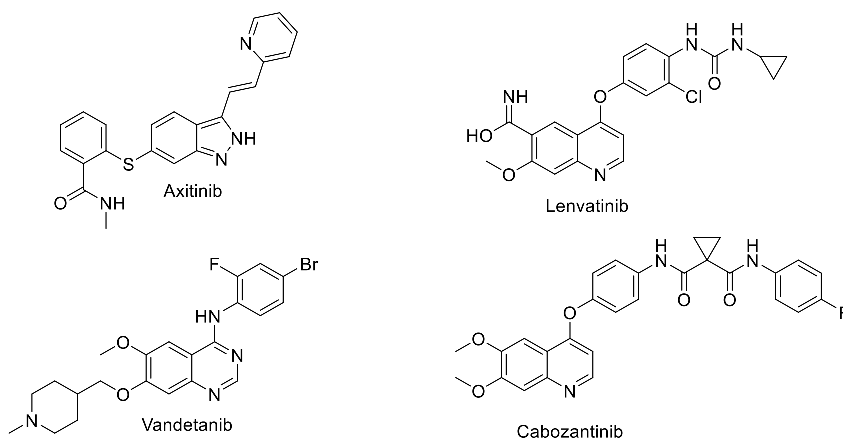
Pazopanib được phát triển từ khung anilinopyrimidine **1** và quá trình tối ưu hóa cấu trúc được thực hiện nhờ học hỏi từ cấu trúc các chất TKI thế hệ trước (Hình 9.15). Các biến đổi để tối ưu hóa cấu trúc bao gồm thay nhân phenol bằng indazole để giảm chuyển hóa pha II ở gan (cho ra chất **3**) [55]. Việc methyl hóa nhóm aniline và tối ưu các nhóm thế trên chất **3** giúp tăng sinh khả dụng và giảm chuyển hóa pha I, cho ra pazopanib.



Hình 9.15. Quá trình phát triển và tối ưu hoạt chất để cho ra pazopanib

Một số chất ức chế đa kinase bao gồm VEGFR thế hệ 2 khác

Axitinib (Inlyta®), lenvatinib (Lenvima®), vandetanib (Caprelsa®), cabozantinib (Cometriq®).



4.1.3. Chất ức chế Bcr-Abl

Chỉ định: ung thư bạch cầu dòng tủy mạn tính (chronic myeloid leukaemia, CML).

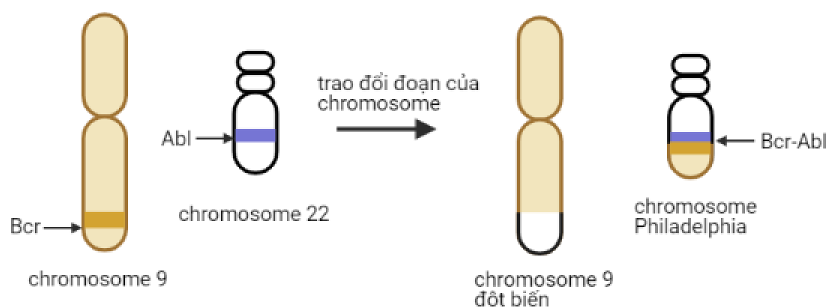
- Thế hệ 1: imatinib. Bị đề kháng trong 1/3 các trường hợp CML do đột biến điểm trên đích tác động Bcr-Abl hoặc do xuất hiện các cơ chế tăng sự đào thải (P-gp).

- Thế hệ 2: nilotinib và dasatinib được ưu tiên sử dụng (first line). Bosutinib là thuốc hàng thứ hai (second line). Các chất thuộc thế hệ 2 có hoạt tính trên hầu hết các Bcr-Abl với đột biến điểm, trừ đột biến T315I.

- Thế hệ 3: ponatinib. Chất ức chế Bcr-Abl thế hệ 3 giải quyết được đột biến điểm T315I.

Enzyme Bcr-Abl là một chimeric kinase, nghĩa là một kinase đột biến được tạo ra từ việc 2 kinase khác nhau bị dính liền với nhau, trong trường hợp này là Bcr kinase và Abl kinase (Hình 9.16). Kinase đột biến Bcr-Abl được tạo ra từ việc trao đổi đoạn bất thường của chrosomone 9 (chứa gene Bcr) và chromosome 22 (chứa gene Abl) dẫn đến việc tạo ra một chromosome đột biến (dẫn xuất của chromosome 22), hay còn gọi là chromosome Philadelphia Ph+ (chứa gene đột biến Bcr-Abl) (Hình 9.16). Ở điều kiện bình thường, Bcr kinase đóng vai trò quan trọng trong việc duy trì tồn tại và tăng trưởng của tế bào, do đó hoạt tính của Bcr được kiểm soát chặt chẽ bởi các yếu tố tăng trưởng tế bào máu (hematopoietic growth factor) như thrombopoietin, IL-3, GM-CSF [28]. Ở kinase Bcr-Abl, hoạt tính kinase của Bcr không còn bị kiểm soát dẫn đến sự tăng trưởng và phân chia không giới hạn của các tế bào này. Kinase Bcr-Abl xuất hiện trong 95% các trường hợp ung thư bạch cầu dòng tủy mạn tính (CML hay là chronic myeloic leukemia).

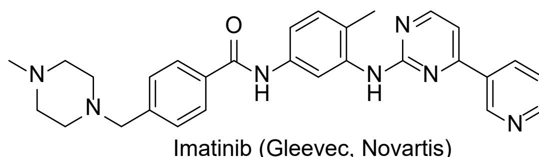
Bệnh CML chiếm 10 - 15% các ca ung thư máu [29]. Triệu chứng phổ biến của CML là mệt mỏi, sụt cân, đau vùng bụng và bạch cầu trong máu tăng cao [28]. Trước khi khám phá ra các chất ức chế Bcr-Abl, tiên lượng của bệnh CML khá ngặt nghèo, với thời gian sống trung bình chỉ còn 3 - 6 năm. Với sự phát triển của các TKI ức chế Bcr-Abl, phần lớn bệnh nhân có thể sống đến tuổi thọ trung bình của người bình thường với điều khiển phải duy trì điều trị TKI đến cuối đời [30,31]. Chất ức chế Bcr-Abl đầu tiên được phát triển là imatinib với cơ chế ức chế cạnh tranh với túi gắn kết ATP. Các thế hệ sau bao gồm: dasatinib, nilotinib, bosutinib và ponatinib [32].



Hình 9.16. Đột biến trao đổi đoạn của chromosome 9 và 22 tạo ra chromosome Philadelphia và kinase đột biến Bcr-Abl. BCR = breakpoint cluster region. Abl = Abelson kinase. Hình được tạo với biorender.com

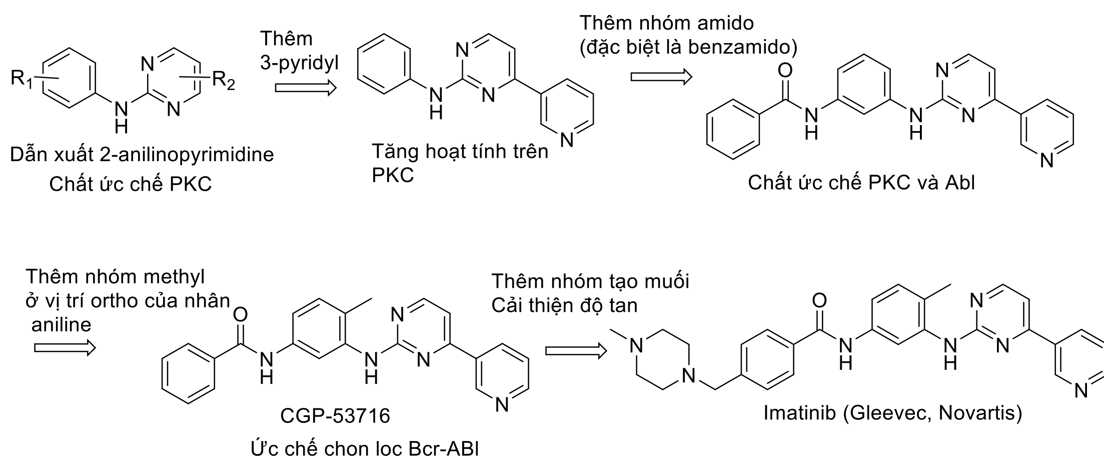
4.1.3.1. Chất ức chế Bcr-Abl thế hệ 1

Imatinib



Chỉ định: ung thư bạch cầu dòng tủy mạn tính (chronic myeloid leukaemia, CML), ung thư lympho bào cấp tính (Acute lymphoblastic leukaemia, ALL) dương tính với phép thử tìm chromosome Philadelphia (chiếm 10 - 15% các trường hợp ung thư máu), ung thư tiêu hóa GIST (nhờ ức chế cả c-Kit kinase).

Khung cấu trúc ban đầu là dẫn xuất 2-anilinopyrimidine, được tối ưu hóa để làm chất ức chế protein kinase C (PKC, một Ser/Thr kinase) (Hình 9.17). Tuy nhiên trong quá trình phát triển, một số dẫn chất có nhóm thế amido ở vị trí số 3 của nhân aniline thể hiện hoạt tính ức Abl. Các dẫn xuất này được tối ưu hóa để tăng độ bền của nhóm amido (có thể bị phân hủy bởi protease hoặc các tác nhân khác) và tăng tính chọn lọc trên kinase Bcr-Abl. Quá trình tối ưu cho thấy vòng thơm bên cạnh nhóm amide (benzamido) làm bền liên kết amide nhờ hiệu ứng cộng hưởng nên liên kết này không bị thủy phân thành aniline (tạp F, phần kiểm nghiệm), là chất có nguy cơ có độc tính. Nhóm thế methyl (R_1) ở vị trí ortho của nhân aniline tăng sự chọn lọc lên kinase Bcr-Abl (Hình 9.17, Bảng 9.13). Quá trình tối ưu hóa cho ra dẫn xuất CGP-53716 có hoạt tính cao và chọn lọc trên Bcr-Abl (IC_{50} 0.4 µM).



Hình 9.17. Quá trình phát triển imatinib

Tuy nhiên độ tan của CGP-53716 kém tan (1.9 mg/L) và có sinh khả dụng đường uống thấp [31]. Để cải thiện độ tan của dẫn xuất trên, các nhóm thế có thể tạo muối (amine bậc ba như (*N*-methypiperazino)methyl) đã được đưa vào vị trí para của nhân benzamido. Quá trình này không những cải thiện độ tan (> 100 g/L) mà còn tăng hoạt tính của chất trên Bcr-Abl, cho ra đời imatinib được sử dụng trong lâm sàng điều trị CML [33]. Imatinib gắn trên enzyme Bcr-Abl ở trạng thái không hoạt động (TKI nhóm 2).

Bảng 9.13. Hoạt tính của imatinib và các dẫn xuất trên các kinase khác nhau

Chuyển hóa loại nhóm methyl bởi CYP 3A4

imatinib

Cấu trúc tổng quát

	R_1	R_2	Bcr-Abl IC_{50} (μM)	EGFR IC_{50} (μM)	PDGFR IC_{50} (μM)	PKCα IC_{50} (μM)	PKCδ IC_{50} (μM)
imatinib	Me	(*N*-methyl-piperazino)methyl	0.038	> 100	0.05	> 100	> 100
1	H	(*N*-methyl-piperazino)methyl	0.1	> 100	0.2	n.d	n.d
CGP-53716	Me	H	0.4	65	0.1	72	> 500
2	H	H	0.4	> 50	5	1.2	23

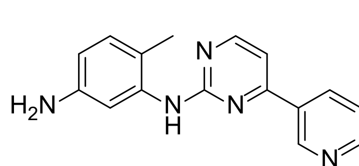
Nồng độ ức chế nửa hoạt tính IC_{50} (μM). Độ tan: imatinib mesylate (> 100 g/L trong nước), dẫn xuất số CGP-53716 (1.9 mg/L trong nước, 3.3 g/L in HCl 0.1 N) [33,34]. Nhóm thế methyl ở R_1 tăng khả năng ức chế chọn lọc lên kinase Bcr-Abl, giảm bớt tác dụng phụ do ức chế PKC. Nhóm thế amine có khả năng tạo muối ở R_2, giúp cải thiện độ tan cho hoạt chất.

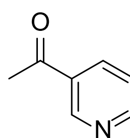
Sinh khả dụng đường uống của imatinib là 98%, thời gian bán thải 18 giờ. Chất được chuyển hóa ở gan bởi enzyme CYP3A4 thành dẫn xuất loại bỏ bớt 1 nhóm methyl vẫn còn hoạt tính. Do đó không nên sử dụng chung với thuốc (ví dụ: cyclosporine) hoặc thực phẩm (ví dụ: nước ép bưởi chùm) có khả năng ức chế hoặc cảm ứng CYP3A4 [25].

Tác dụng phụ: phù, tiêu chảy, buồn nôn, viêm da. Tác dụng phụ gây độc lên cơ tim và gan đã được báo cáo, tuy nhiên khá hiếm gặp.

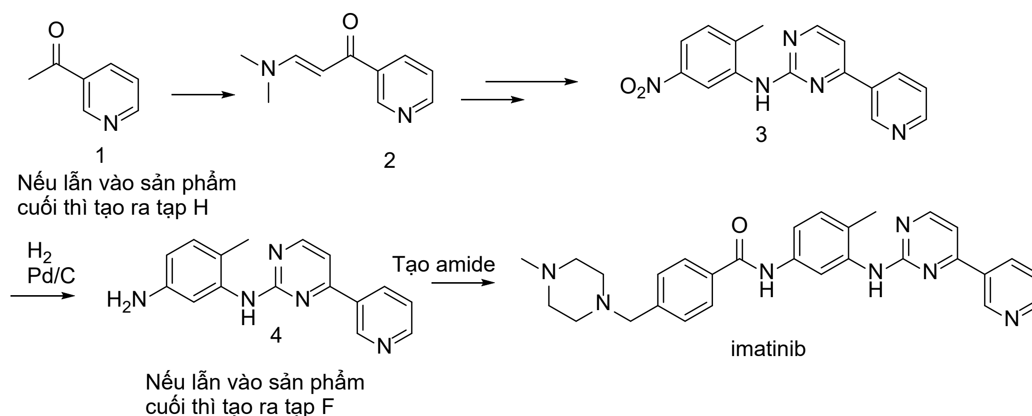
Cơ chế đề kháng: imatinib bị đề kháng do đột biến đích tác động hoặc tăng cơ chế đào thải.

Tạp chất kiểm nghiệm





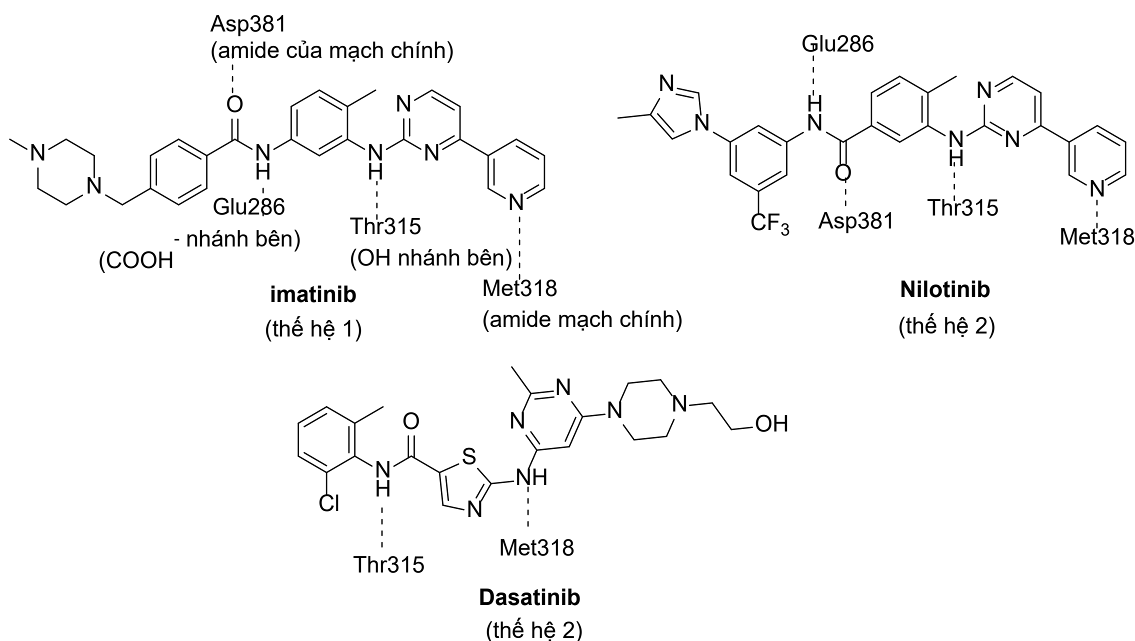
Dược điển châu Âu EP10 quy định kiểm 6 tạp: A (< 0.15%), B (< 0.15%), C (< 0.3%), D (< 0.2%), F, H, trong đó tạp F (< 20 ppm) và H (<0.02%) được quy định nghiêm ngặt nhất. Tạp F là sản phẩm trung gian trong quá trình tổng hợp, hoặc là sản phẩm thủy phân liên kết amide của imatinib nếu liên kết này không đủ bền. Do là dẫn xuất của aniline, tạp F có nguy cơ gây đột biến gen sau khi được chuyển hóa. Tạp này được kiểm bằng HPLC-MS. Tạp H là nguyên liệu đầu trong quy trình tổng hợp imatinib, là dẫn xuất của vòng 3-pyridyl [34]. Tạp H được kiểm bằng HPLC.



Hình 9.18. Tóm tắt quy trình tổng hợp imatinib [35]

4.1.3.2. Chất ức chế Bcr-Abl thế hệ 2

Các chất ức chế Bcr-Abl thế hệ 2 bao gồm: nilotinib, dasatinib, bosutinib.

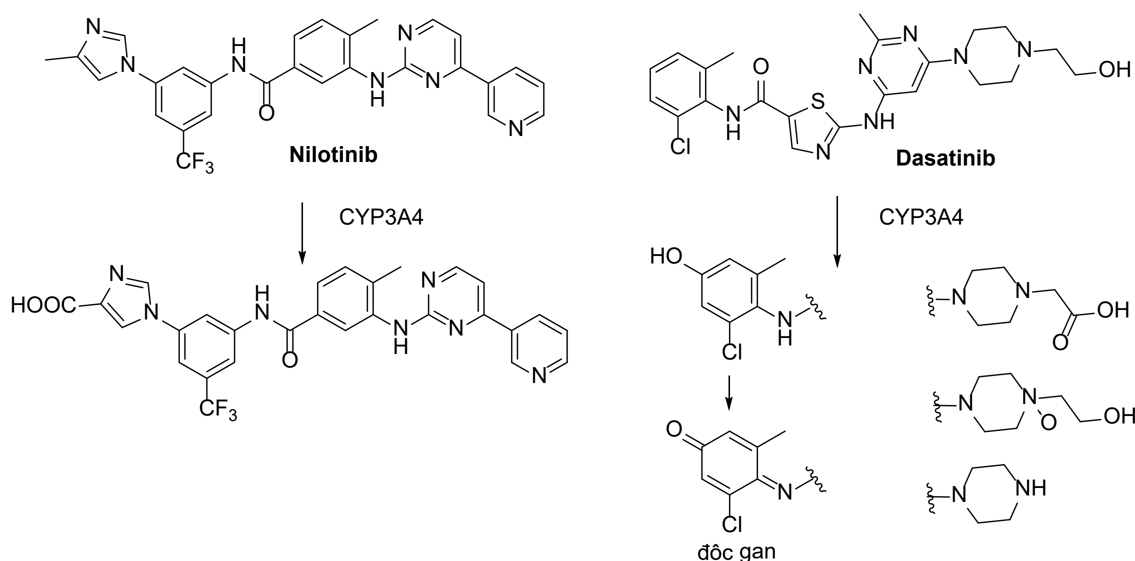


Các TKI ức chế Bcr-Abl thế hệ hai được chỉ định trong trường hợp có đề kháng với imatinib, trừ trường hợp đột biến T315I.

Nilotinib

Chất có cấu trúc tương tự như imatinib. Tuy nhiên nhóm piperazine đã bị thay thế bởi nhóm imidazole và chiều của liên kết amide trong cấu trúc đã bị đảo ngược. Các thay đổi này giúp tăng hoạt tính của nilotinib (IC_{50} 10 - 25 nM) gấp 10 lần so với imatinib (IC_{50} 100 - 500 nM) trên Bcr-Abl [32]. Việc thay thế piperazine bằng imidazole (có pK_a thấp hơn) tránh cho nilotinib trở thành cơ chất của protein vận chuyển OCT-1 (organic cation transporter 1) và tránh bị đào thải bởi cơ chế này [25].

Nilotinib có sinh khả dụng khoảng 30%. Khi dùng chung với bữa ăn nhiều chất béo có thể làm tăng sinh khả dụng lên 50% và tăng nguy cơ độc tính. Do đó, nilotinib được dùng xa bữa ăn (1 giờ trước khi ăn hoặc 2 giờ sau khi ăn). Thuốc được chuyển hóa ở gan bởi CYP3A4 thành chất không có hoạt tính (oxy hóa nhóm thế methyl trên nhân imidazole) (Hình 9.19). Do đó việc dùng chung với thuốc và thức ăn ức chế CYP3A4 có thể gây tác dụng phụ nghiêm trọng, bao gồm kéo dài quãng QT.



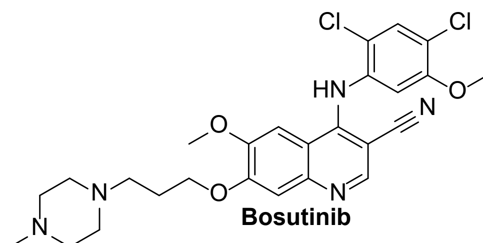
Hình 9.19. Các chất chuyển hóa của nilotinib và dasatinib

Dasatinib

Dasatinib sử dụng khung cấu trúc hoàn toàn khác so với imatinib và nilotinib. Nó có khả năng gắn trên Bcr-Abl cả ở cấu dạng hoạt động lẫn không hoạt động (cơ chế pha trộn giữa TKI loại 1 và loại 2). Hoạt tính trên Bcr-Abl (IC_{50} 0.8 - 1.8 nM) mạnh gấp 325 lần imatinib. Cả dasatinib và nilotinib đều có hoạt tính trên hầu hết các biến thể của Bcr-Abl với đột biến điểm, trừ đột biến T315I (gatekeeper mutant).

Sinh khả dụng của dasatinib khá thấp do hấp thụ kém và bị chuyển hóa nhiều bởi CYP3A4 (oxy hóa nhóm hydroxyethyl và 2-chloro-6-methylaniline) (Hình 9.19). Các chất chuyển hóa vẫn có hoạt tính nhưng chỉ chiếm tỷ lệ nhỏ. Các tác dụng phụ thường gặp bao gồm suy tủy, phù ngoại biên và các vấn đề tiêu hóa.

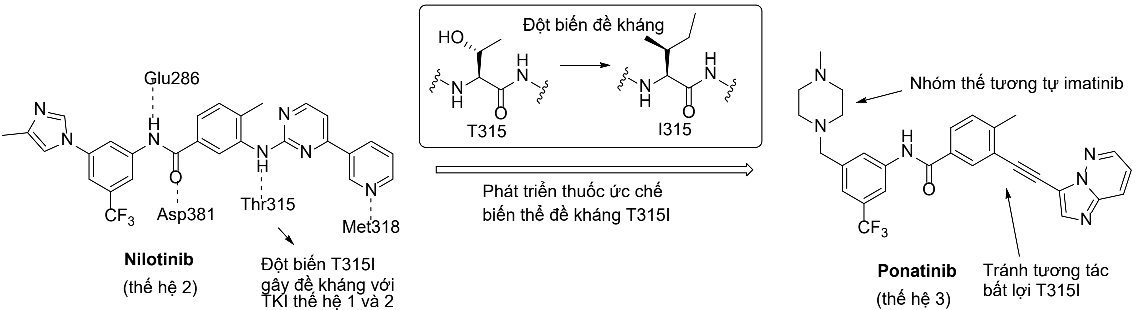
Bosutinib



Dẫn xuất của quinoline được dùng dự phòng (second line) khi có đề kháng với imatinib. Bosutinib ban đầu được thiết kế để ức chế Src kinase nhưng sau đó thể hiện hoạt tính tốt trên Bcr-Abl (gần tương đương nilotinib).

4.1.3.3. Chất ức chế Bcr-Abl thế hệ 3

TKI thế hệ 3 giải quyết vấn đề đột biến T315I. Đột biến từ threonine thành isoleucine (một amino acid có nhánh bên lớn hơn và không phân cực) gây trở ngại cho việc gắn kết của nhân pyrimidine của TKI thế hệ 1 - 2 lên đích tác động và dẫn đến việc đề kháng thuốc. Ponatinib giải quyết vấn đề này bằng việc thay thế nhân pyrimidine và sử dụng nhóm thế có nối 3 (có thể tích nhỏ hơn) để tránh tương tác bất lợi với T315I (Hình 9.20) [32].



Hình 9.20. Ponatinib vượt qua đột biến đề kháng T315I

Bảng 9.14. So sánh hoạt tính các thế hệ TKI trên Bcr-Abl có đột biến T315I

Abl	IC_{50} (nM)				
	Imatinib	Nilotinib	Dasatinib	Bosutinib	Ponatinib
Wt	100 - 500	< 10 - 25	0.8 - 1.8	41.6	0.5
T315I	> 6400	697 - 10000	137 - 1000	1890	11

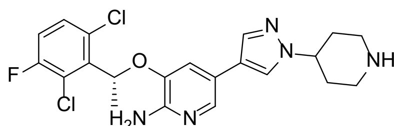
Hoạt tính ức chế các biến thể của Bcr-Abl của 3 thế hệ kinase khác nhau [32]

4.1.4. Chất ức chế ALK

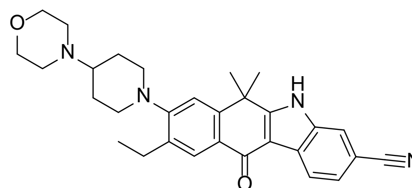
Thế hệ 1: crizotinib

Thế hệ 2: alectinib

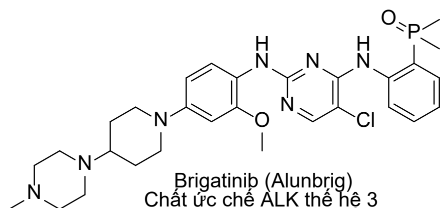
Thế hệ 3: lorlatinib, brigatinib



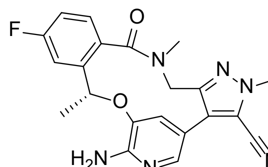
crizotinib (Xalkori)
Chất ức chế ALK thế hệ 1



Alectinib (Alecensa)
Chất ức chế ALK thế hệ 2



Brigatinib (Alunbrig)
Chất ức chế ALK thế hệ 3



Lorlatinib (Lorbrena)
Chất ức chế ALK thế hệ 3

Chỉ định: ung thư phổi không tế bào nhỏ (NSCLC) có dương tính với đột biến tái sắp xếp ALK (ALK+, 2 - 7% các trường hợp NSCLC).

Gene ALK (anaplastic lymphoma kinase) bi đột biến trong 2 - 7% các trường hợp ung thư phổi thể không tế bào nhỏ (NSCLC-non small cell lung cancer). Gene này mã hóa cho một thụ thể có hoạt tính tyrosine kinase ở màng tế bào (transmembrane tyrosine kinase receptor). Gene ALK biểu hiện ở hệ thần kinh trong quá trình phát triển phôi thai (embryogenesis) nhưng sau đó mức độ biểu hiện giảm mạnh. Ở người trưởng thành, ALK chỉ có một vài tế bào biểu mô mạch máu não. Các loại đột biến thường gặp ở ALK là đột biến tái sắp xếp dính liền với protein khác (ALK-R), đột biến khuếch đại (ALK-A) và đột biến điểm. ALK-R thường gặp ở các bệnh nhân trẻ, ít hoặc không hút thuốc (70% các trường hợp chưa từng hút thuốc), trái ngược với các loại đột biến khác [36]. Trong các ALK-R, EML4 là protein hay đột biến tái sắp xếp nhất với ALK, tạo ra EML4-ALK có hoạt tính kinase hoạt động liên tục (constitutive activity), kích hoạt các pathway như Ras/Raf/MEK/ERK1/2 và gây ra sự phân chia không giới hạn của tế bào.

Chất ức chế ALK thế hệ đầu tiên là crizotinib, được đưa vào sử dụng vào năm 2011 để điều trị NSCLC có ALK dương tính. Liều 250 mg, đường uống, 2 lần 1 ngày. Thời gian bệnh được kiểm soát và không tiến triển (PFS, progression-free survival) trung bình là 10 tháng và 56% bệnh nhân sống hơn 4 năm trong thử nghiệm lâm sàng PROFILE1014. Nhược điểm của crizotinib phân bố kém qua hàng rào máu não do bơm ngược P-gp, dẫn đến hiệu quả trị liệu thấp trong trường hợp khối u di căn lên não [37]. Đồng thời đề kháng với crizotinib do đột biến điểm ALK đã được báo cáo (ví dụ như G1202R chiếm 25 - 30% các trường hợp).

Chất ức chế ALK thế hệ 2 như alectinib có thể kéo dài PFS của bệnh nhân lên khoảng 34 tháng với bệnh nhân chưa từng điều trị với crizotinib (Bảng 9.15). Đối với trường hợp đột biến ALK đề kháng crizotinib, thời gian PFS là khoảng 9 tháng [36].

Chất ức chế ALK thế hệ 3 như lorlatinib (chấp thuận bởi FDA tháng 3/2021) nâng thời gian PFS của bệnh nhân lên trên 33 tháng hoặc nhiều hơn (Bảng 15). Với trường hợp bệnh đề kháng với alectinib, PFS là khoảng 11 tháng. Liều 100 mg, đường uống, 1 lần/ngày. Lorlatinib được phát triển để vượt qua hàng rào máu não và có hiệu quả chống lại các đột biến điểm đề kháng crizotinib. Chất ức chế kép ALK và EGFR, brigatinib, được FDA chấp thuận vào tháng 5/2020 có thể vượt qua đề kháng crizotinib, kéo dài PFS lên 16 tháng [36]. Brigatinib cũng có thể vượt qua đề kháng TKI ức chế EGFR thế hệ 3 osimertinib nếu kết hợp với cetuximab [38]. Nhiều nghiên cứu cho rằng việc sử dụng các TKI theo trình tự thế hệ 1/thế hệ 2/thế hệ 3 tăng khả năng xuất hiện đột biến đề kháng, do đó nên sử dụng trực tiếp các TKI thế hệ mới nhất nếu có thể [37].

Bảng 9.15. So sánh hiệu quả của các chất ức chế ALK qua các thử nghiệm lâm sàng

Điều trị	Crizotinib	Alectinib	Alectinib	Brigartinib	Lorlatinib	Lorlatinib
Tên nghiên cứu lâm sàng	PROFI-LE-1014	J-ALEX	ALEX	ALTA-1L	CROWN	EXP1
Chất đối chiếu	Hóa trị liệu*	crizotinib	crizotinib	crizotinib	crizotinib	không đối chiếu
Số bệnh nhân	172	103	152	137	149	30
Tỷ lệ đáp ứng điều trị	74%	76%	83%	76%	76%	90%
Thời gian trung bình bệnh không tiến triển (PFS)	10.9 tháng	34.1 tháng	25.6 - 34.8 tháng	24 - 29 tháng	chưa xác định được**	chưa xác định được**

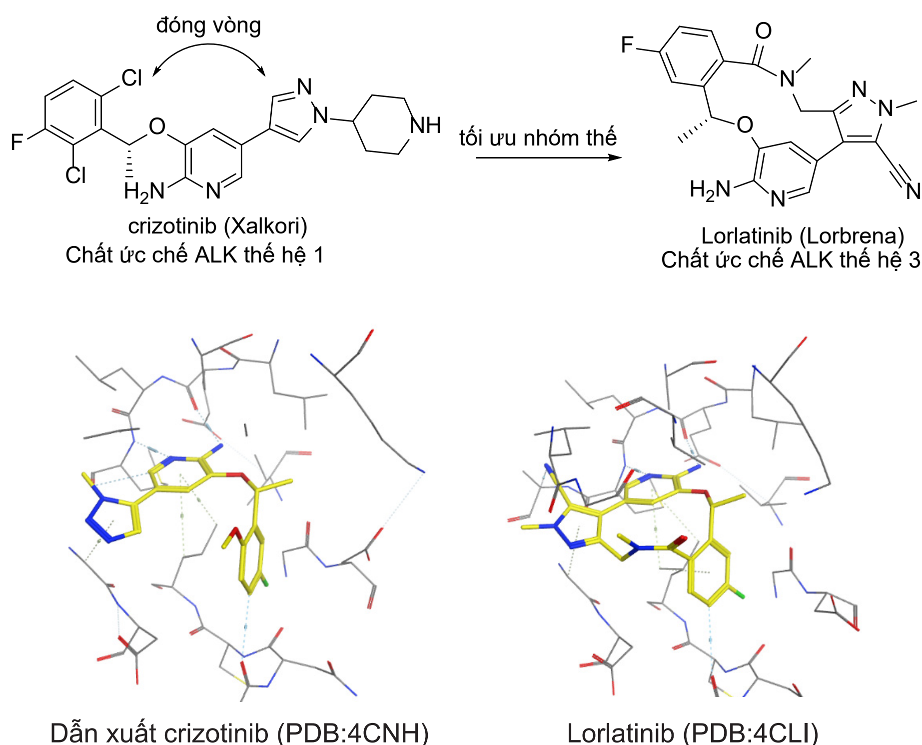
(*) Hóa trị liệu pemetrexed/cisplatin hoặc pemetrexed/carboplatin. (**) Trên 65% bệnh nhân có bệnh không tiến triển sau 33 tháng. Dữ liệu trích từ Elsayed *et al*. Pharmaceuticals (Basel) 2021, 14.

Lorlatinib được phát triển từ crizotinib bằng phương pháp thiết kế thuốc dựa vào cấu trúc (SBDD-structure-based drug design) (Hình 9.21, Bảng 9.16). Cấu trúc tinh thể của các dẫn xuất của crizotinib cho thấy ligand gắn kết với đích tác động với cấu dạng hình chữ U với nhân fluoroaryl ở gần nhân pyrazole. Từ đây dẫn đến giả thiết có thể phát triển các phân tử dạng vòng để tối ưu hóa ái lực với đích tác động, giảm số lượng liên kết linh động (rotable bond) và diện tích bề mặt phân cực (PSA = polar surface area). Việc giảm thiểu các chỉ số này có thể tăng khả năng thấm qua màng tế bào. Đồng thời cấu trúc này có thể giảm sự nhận biết và đào thải thuốc bởi các protein bơm ngược P-gp [39].

Bảng 9.16. So sánh hoạt tính của crizotinib và lorlatinib

Thuốc	ALK cell IC_{50}	ALK L1196M cell IC_{50}	MDR BA/AB
Crizotinib	80 nM	843 nM	45
Lorlatinib	1.3 nM	21 nM	1.5

L1196M = đột biến gatekeeper giảm hoạt tính của crizotinib. MDR = multidrug resistant, BA = chiều đào thải (basolateral-apical), AB = chiều hấp thụ (apical-basolateral). BA/AB = tỷ lệ đào thải (efflux ratio). Giá trị này càng thấp càng tốt và thông thường BA/AB gần bằng 1 với chất thấm thụ động qua hàng rào máu não.



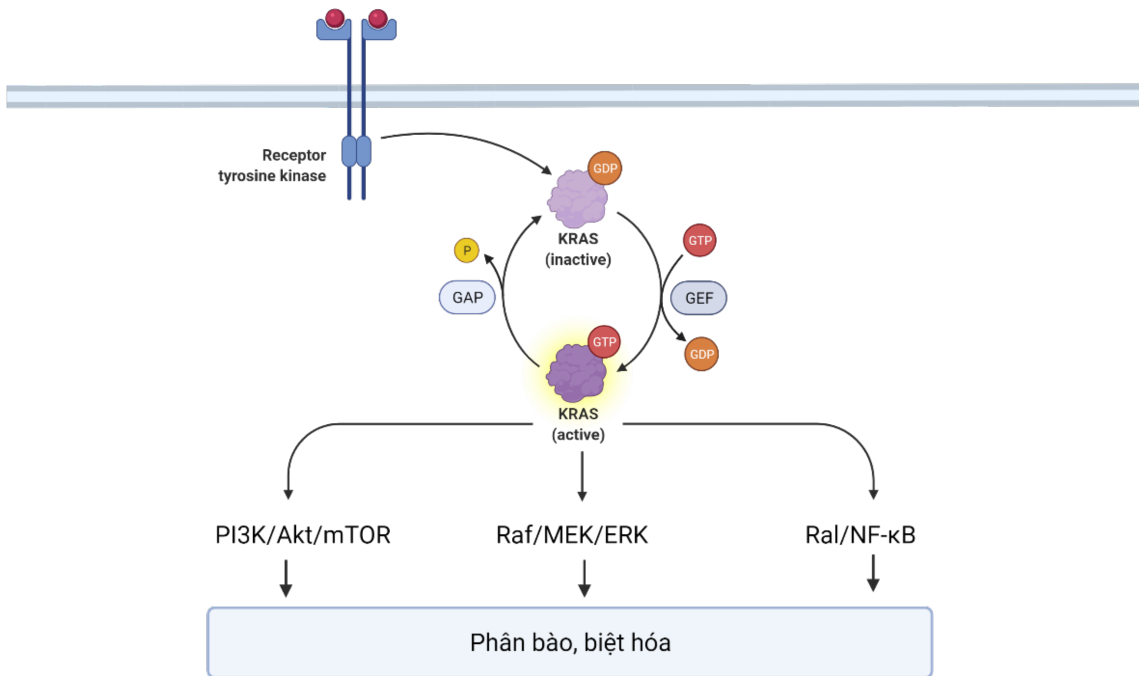
Hình 9.21. Lorlatinib được phát triển từ crizotinib nhờ thiết kế thuốc hợp lý

4.2. Chất ức chế KRAS

Sotorasib và adagrasib - Chỉ định cho ung thư phổi NSCLC có KRAS đột biến.

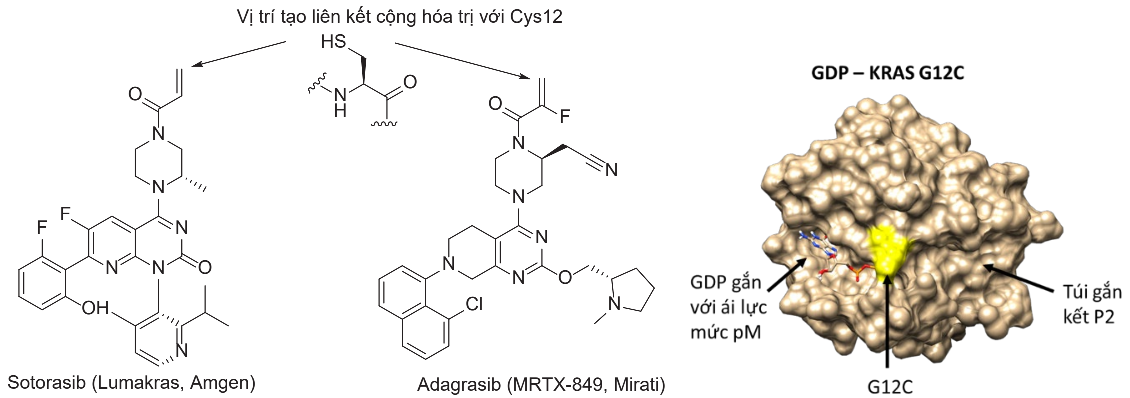
Đột biến gene KRAS khá phổ biến trong ung thư phổi, chiếm 20 - 25% các trường hợp ung thư phổi NSCLC [40]. Đột biến KRAS thường xuất hiện ở các bệnh nhân có tiền sử hút thuốc lá. KRAS (Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog) là thành viên của nhóm gene RAS (KRAS, HRAS, NRAS), mã hóa nhóm protein có hoạt tính GTPase, có túi gắn kết GTP trạng thái hoạt động và GDP trong trạng thái không hoạt động. Ở dạng hoạt động, protein KRAS kích hoạt nhiều chuỗi truyền tín hiệu quan trọng của tế bào (ví dụ như PI3K/Akt, Raf/MEK/ERK) (Hình 9.22). KRAS được tổng hợp dưới dạng protein

hòa tan (soluble protein) nhưng sau đó được gắn thêm nhóm farnesyl (lipid) để neo vào màng tế bào và đảm nhận việc truyền tín hiệu ngoại bào vào bên trong. Hoạt tính của KRAS được điều hòa bởi các protein GEF (Guanine nucleotide Exchange Factor, thay GDP bằng GTP và kích hoạt KRAS) và GAP (GTPase Activating Protein, gia tăng hoạt tính GTPase của KRAS để thủy phân GTP và đưa KRAS về dạng không hoạt động).



Hình 9.22. Vai trò của KRAS trong chuỗi truyền tín hiệu nội bào.
Hình được tạo với biorender.com

Đột biến KRAS làm protein này không còn nhạy cảm với GAP và duy trì ở trạng thái hoạt động. Đột biến KRAS-G12C chiếm 39% các trường hợp đột biến KRAS ở bệnh nhân NSCLC, còn lại là các đột biến G12V (18 - 21%), G12D (17 - 18%). Do KRAS là đích tác động tiềm năng cho việc phát triển thuốc điều trị ung thư phổi, nhiều cách tiếp cận để ức chế KRAS đã được thử nghiệm, bao gồm (1) ức chế các enzyme đóng vai trò trong việc gắn nhóm farnesyl và neo KRAS vào màng tế bào (phát triển chất cạnh tranh với farnesyl pyrophosphate, chất ức chế enzyme FPP, GGPP), (2) ức chế các chuỗi truyền tín hiệu của KRAS (ức chế c-Raf bằng sorafenib) và (3) trực tiếp ức chế KRAS. Các cách tiếp cận không trực tiếp (cách 1 và 2) chưa đạt được hiệu quả như mong đợi. Việc ức chế trực tiếp KRAS khá khó khăn do protein này có dạng hình cầu và không có túi gắn kết rõ ràng. Hơn nữa KRAS gắn với GDP/GTP với ái lực rất cao (K_d 10 pM, nồng độ GTP nội bào khá cao 0.5 mM) nên cơ chế cạnh tranh với cơ chất GDP/GTP gần như không khả thi (Hình 9.23). Gần đây, các chất ức chế cộng hóa trị trên KRAS G12C đã được phát triển bằng cách tận dụng amino acid đột biến Cys12 như một điểm neo để gắn kết phân tử thuốc.

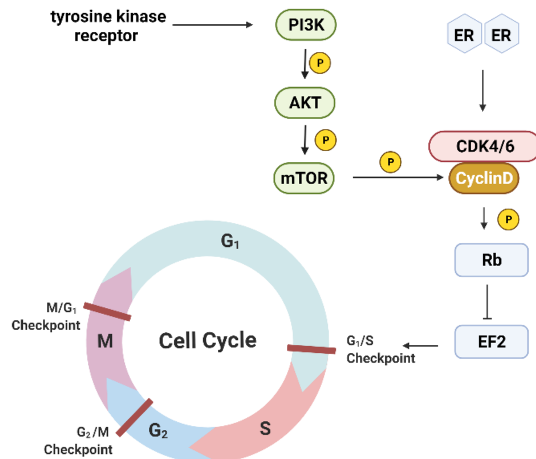


Hình 9.23. Cấu trúc chất ức chế không thuận nghịch KRAS. PDB: 4L8G

Sotorasib và adagrasib được phát triển dựa trên khái niệm này (Hình 9.23). Nhóm acrylamide tạo liên kết cộng hóa trị với Cys12, trong khi phần còn lại của phân tử gắn kết với vị trí P2. Túi gắn kết P2 chỉ xuất hiện ở cấu dạng KRAS gắn kết với GDP. Thử nghiệm lâm sàng cho thấy sotorasib có hiệu quả trên bệnh nhân KRAS-G12C đề kháng với các trị liệu khác (đã điều trị với dẫn xuất platinium, miễn dịch trị liệu PD-L1 hoặc kết hợp cả hai), cho giá trị PFS khoảng 6.8 tháng, tỷ lệ đáp ứng là 37% (thử nghiệm lâm sàng codebreak-100). Các tác dụng phụ thường gặp bao gồm kéo dài khoảng QT (14%), buồn nôn (51%) và tiêu chảy (54%).

4.3. Chất ức chế serine protease

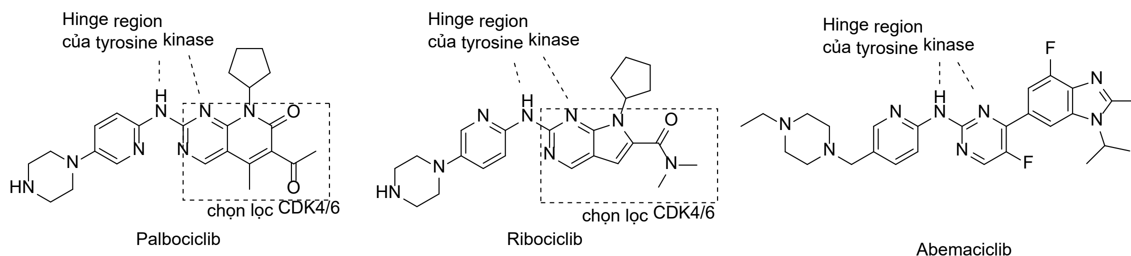
Chất ức chế serine protease trị ung thư nhắm nhiều đích tác động khác nhau như cyclin-dependent kinase CDK4/6, PI3K hoặc mTOR (Hình 9.24), phần lớn chỉ định cho ung thư vú.



Hình 9.24. Tương tác giữa chuỗi truyền tín hiệu PI3K/AKT/mTOR, thụ thể estrogen, CDK4/6 và chu kỳ tế bào. Hình được tạo với biorender.com

4.3.1. Chất ức chế CDK4/6

Palbociclib, ribociclib, abemaciclib: chỉ định cho ung thư vú ER+.



CDK (cyclin-dependent kinase) là các kinase điều hòa chu kỳ tế bào. Chu kỳ tế bào có 4 pha chính (G1, S, G2, M) trong đó G1 là tế bào ở trạng thái nghỉ, S (DNA synthesis) là trạng thái tế bào tổng hợp vật liệu di truyền cho việc phân bào, G2 là trạng thái tế bào tái sắp xếp lại các cơ quan và vật liệu di truyền cho việc phân bào, M là giai đoạn phân bào. Việc bước từ pha này sang pha khác (qua checkpoint) của tế bào được kiểm soát bởi các protein cyclin và cyclin-dependant kinase (CDK). Các chất ức chế CDK không chọn lọc như dẫn xuất flavone (flavopyridol, riviciclib) có nhiều độc tính [41]. CDK4/6 giúp tế bào chuyển tiếp từ trạng thái G1 sang S bằng cách gỡ bỏ ức chế của protein Rb lên các protein dịch mã như E2F. Một khi được giải phóng, E2F bắt đầu dịch mã các protein cần thiết cho quá trình tế bào bước vào pha S. Do đó, ức chế CDK4/6 có thể ức chế quá trình phân bào.

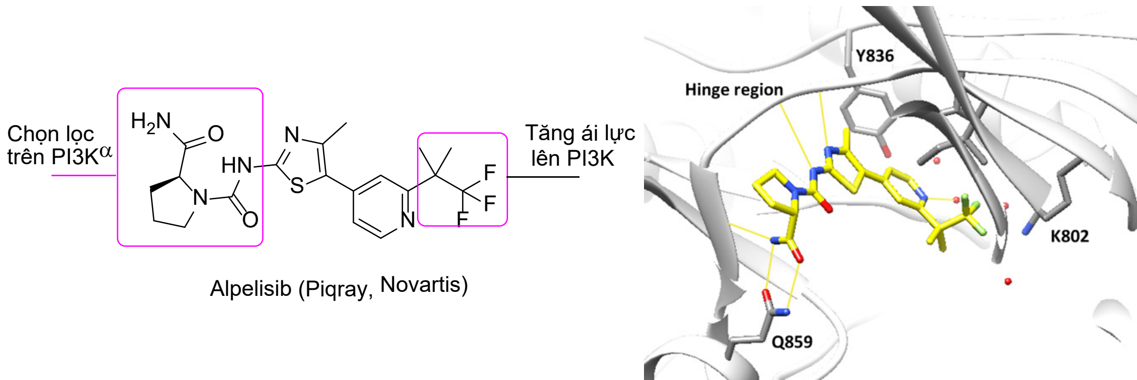
Các chất ức chế CDK4/6 dùng trong lâm sàng bao gồm palbociclib, ribociclib và abemaciclib. Các chất này thường được chỉ định trong điều trị ung thư vú có ER+ do estrogen có khả năng kích thích sự phân chia và phát triển của tế bào bằng cách tăng mức độ hoạt động của CDK4/6 [41].

Cơ chế các chất trên là cạnh tranh với túi gắn kết của ATP. Cả 3 chất đều có sự tương đồng nhất định về mặt cấu trúc như nhân 2-aminopyrimidine đóng vai trò quan trọng trong tương tác với vùng khớp nối trong hẻm xúc tác (hinge region). Nhóm thế piperazine đóng vai trò quan trọng trong việc cải thiện độ tan của chất (tương tự như đã gặp ở dẫn xuất imatinib). Palbociclib và ribociclib có độ chọn lọc hơn 100 lần trên CDK4/6 so với các CDK khác nhờ các nhóm thế có kích cỡ trung bình như acetyl, acetamido của nhân thơm trung tâm (là dẫn xuất 2-aminopyrimidine). Abemaciclib có độ chọn lọc thấp hơn (chỉ có nhóm thế F trên nhân 2-aminopyrimidine), khoảng 6 lần trên CDK4/6 so với CDK9 [41,42]. Do ức chế cả CDK9 nên abemaciclib có nhiều độc tính trên hệ tiêu hóa. Tuy nhiên abemaciclib có khả năng vượt qua hàng rào máu não tốt hơn nên có ưu thế trong điều trị ung thư vú di căn lên não. CDK6 còn đóng vai trò trong việc hoạt hóa các tế bào gốc tạo máu nên tác dụng phụ phổ biến của 3 chất trên là giảm tế bào máu. Abemaciclib có thể được sử dụng liên tục, trong khi ribociclib và palbociclib phải dừng nghỉ 1 tuần sau 3 tuần điều trị để giúp bạch cầu trung tính phục hồi [41]. Các tác dụng phụ phổ biến khác bao gồm buồn nôn, tiêu chảy, mệt mỏi.

Trong ung thư vú, kết hợp ribociclib, palbociclib dùng đường uống với trị liệu hormone (tamoxifen, fulvestrant) giúp tăng thời gian PFS lên 20 - 24 tháng so với 9 - 14 tháng của trị liệu đối chứng [41].

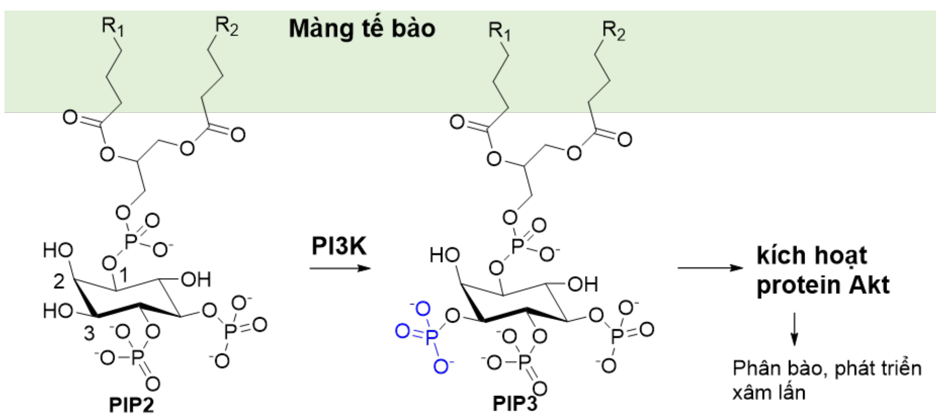
4.3.2. Chất ức chế PI3Kα

Alpelisib: chỉ định cho ung thư vú có ER+, PIK3CA đột biến, HER2 âm tính.



Hình 9.25. Cấu trúc của alpelisib và sự gắn kết trên PI3Kα. PDB: 4JPS

PI3K (phosphatidininositide-3-kinase) là lipid kinase (không phải Ser/Thr kinase) có nhiệm vụ gắn nhóm phosphate lên vị trí số 3 của nhân inositol của lipid phosphatidylinositol PIP2, tạo ra các dẫn xuất PIP3 (Hình 9.26). PIP3 có khả năng điều hòa quá trình phân chia, phát triển và xâm lấn của tế bào bằng chuỗi truyền tín hiệu PI3K/Akt/mTOR. Do Akt và mTOR đều là Ser/Thr kinase nên chất ức chế PI3K được gộp vào trình bày trong phần này.



Hình 9.26. Vai trò của PI3K trong việc gắn phosphate lên lipid PIP2

Có 3 nhóm enzyme PI3K trong đó nhóm I là nhóm lớn nhất. Cấu trúc PI3K nhóm I có 2 tiểu đơn vị là p110 và p85 trong đó tiểu đơn vị p110 là tiểu đơn vị xúc tác. Tiểu đơn vị p110 có 3 isoform p110α, p110β, P110δ. Tiểu đơn vị p110α được mã hóa bởi gene

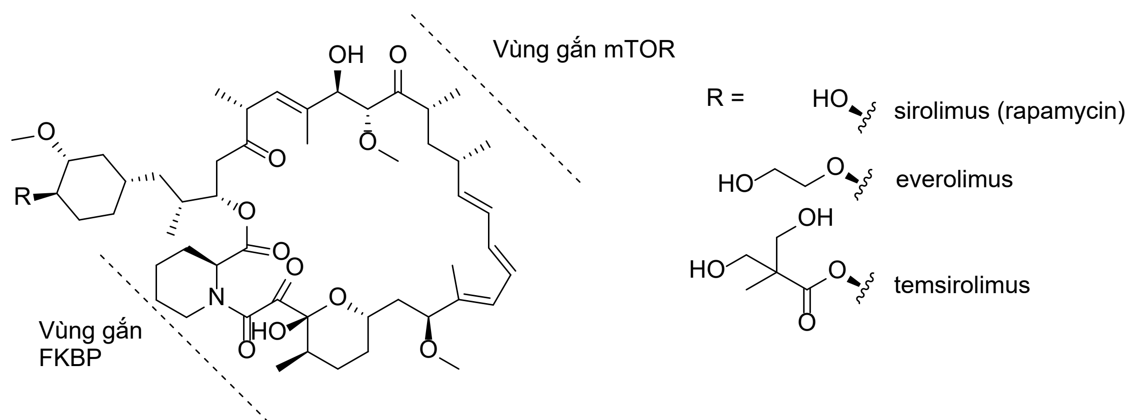
PIK3CA. Gene này bị đột biến trong 32% trường hợp ung thư trực tràng, 27% ung thư não glioblastoma, 25% ung thư dạ dày và 36% ung thư gan [43]. Do đó, PI3Kα (có tiểu đơn vị xúc tác là p110α) là đích tác động tiềm năng cho điều trị ung thư.

Từ chất ban đầu có nhân 2-aminothiazol ức chế nhiều PI3K, Norvartis đã phát triển ra alpelisib, là chất ức chế chọn lọc PI3Kα. Việc ức chế chọn lọc rất quan trọng trong việc giảm thiểu tác dụng phụ của thuốc. Khả năng chọn lọc của thuốc nhờ vào nhóm thế pyrrolidine carboxamide tạo 1 cặp liên kết hydro với Q859 của PI3Kα (Hình 9.25). Nhóm thế trifluoromethyl góp phần tối ưu hóa tương tác với túi gắn kết không phân cực làm tăng hoạt tính trên enzyme [43]. Kết hợp alpelisib và fulvestrant có thể tăng thời gian PFS lên 11 tháng so với 5.7 tháng của nhóm chỉ điều trị với fulvestrant trong thử nghiệm lâm sàng trên bệnh nhân ung thư vú ER+, HER2- (70% số ca ung thư vú) đã được điều trị bằng nội tiết tố trước đó [44].

Alpelisib dùng đường uống với liều 300 mg, một lần/ngày. Sinh khả dụng trên 50%, thời gian bán thải là 13.7 giờ. Chất đào thải chủ yếu qua mật dưới dạng nguyên vẹn (38%) hoặc dưới dạng dẫn xuất thủy phân liên kết amide của pyrrolidine carboxamide (40%) [45]. Các tác dụng phụ chủ yếu bao gồm tăng đường huyết, kích ứng da, tiêu chảy. Nếu tác dụng phụ quá nghiêm trọng có thể giảm liều xuống còn 200 - 250 mg/ngày.

4.3.3. Chất ức chế mTOR

Temsirolimus, everolimus: điều trị ung thư biểu mô thận di căn, ung thư vú có ER+, HER-



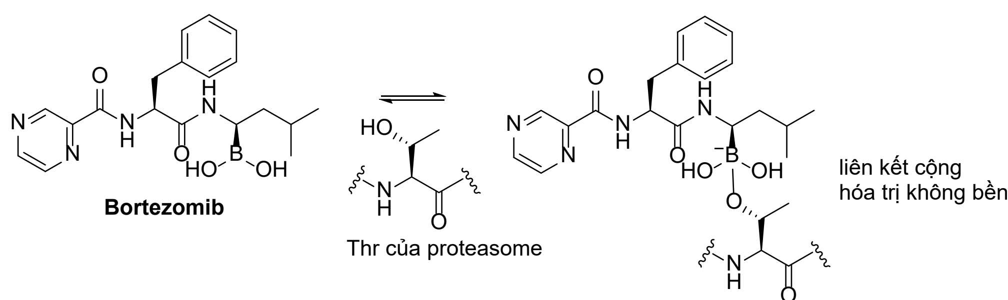
mTOR (mammalian Target of Rapamycin) là một protein nằm trong điểm giao thoa của nhiều chuỗi truyền tín hiệu như PI3K/Akt/mTOR và Ras/Raf/MEK. Một khi ở trạng thái hoạt động, mTOR sẽ gắn nhóm phosphate lên các yếu tố chuyển mã như S6K1, 4E-BP1 và kích hoạt quá trình dịch mã các protein cần thiết cho quá trình phát triển và phân bào, đưa tế bào từ pha G1 vào pha S [46]. Phần lớn các trường hợp ung thư biểu mô thận có hiện tượng tăng hoạt tính của mTOR.

Chất ức chế mTOR đầu tiên sử dụng trong lâm sàng là rapamycin (sirolimus), phân lập từ *Streptomyces hydroscopius* và dùng điều trị chống thải ghép tạng [8]. Chất này không gắn trực tiếp với mTOR mà gắn với protein FKBP12, sau đó phức hợp FKBP12-rapamycin mới gắn lên mTOR. Tuy có tiềm năng điều trị ung thư tuy nhiên rapamycine (sirolimus) có độ tan kém và sinh khả dụng đường uống thấp (15%), thời gian bán thải dài (55 giờ) không phù hợp với việc điều trị ung thư. Do đó các dẫn xuất như everolimus, temsirolimus có độ tan tốt hơn, được phát triển bằng cách thêm nhóm thế có nhóm hydroxy. Everolimus có sinh khả dụng được cải thiện (30%), thời gian bán thải ngắn hơn (30 giờ), được chỉ định dùng đường uống 10 mg × 1 lần/ngày. Temsirolimus có độ tan được cải thiện, được sử dụng bằng đường tiêm truyền tĩnh mạch với liều 25 mg × 1 lần/tuần (thời gian bán thải 17 giờ, tuy nhiên có thể chuyển hóa thành sirolimus có thời gian bán thải 55 giờ).

Tác dụng phụ thường gặp là tăng đường huyết, tăng cholesterol trong máu và các tác dụng phụ ít gặp hơn như mệt mỏi, buồn nôn, tiêu chảy, tăng nguy cơ nhiễm trùng. Các bệnh nhiễm trùng cơ hội thường ít gặp hơn với temsirolimus (8% vs 25% từ everolimus) do việc tiêm truyền 1 tuần/lần giúp có khoảng thời gian cho hệ miễn dịch phục hồi sau trị liệu.

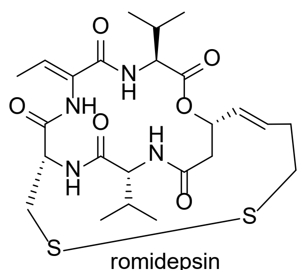
4.4. Các đích tác động khác

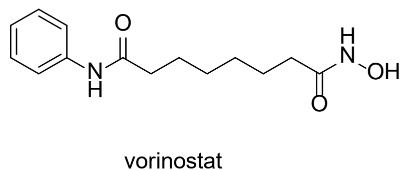
Chất ức chế proteasome 26S: **bortezomib** (ức chế tạo liên kết hóa trị có thể đảo nghịch), chỉ định cho đa u tủy xương (multiple myeloma).



Hình 9.27. Cơ chế tác tạo liên kết cộng hóa trị của bortezomib

Proteasome đóng vai trò trong việc dọn dẹp các protein lỗi trong tế bào, tuy nhiên nó cũng phân hủy các protein đóng vai trò kiểm soát sự phát triển của tế bào. Bằng cách khóa proteasome, các protein này bị tích tụ và dẫn đến xáo trộn hoạt động nội bào và gây chết tế bào. Bortezomib ức chế bằng cách tạo liên kết cộng hóa trị giữa boronic acid và amino acid threonine (Thr) của proteasome [47].





Chất ức histone deacetylase: **romidepsin** (chỉ định cho ung thư lympo T ngoại biên, peripheral T-cell lymphoma), **vorinostat** (chỉ định cho ung thư lympo T thể tổn thương dưới da, cutaneous T cell lymphoma).

Histone deacetylase (HDAC) là enzyme gỡ bỏ nhóm acetyl trên lysine của histone. Điều này giúp giải phóng nhóm amine tự do, được ion hóa ở pH sinh lý thành ammonium mang điện tích dương, giúp histone gắn chặt hơn vào DNA (có nhóm phosphate mang điện tích âm). Histone gắn chặt vào DNA làm giảm quá trình dịch mã và biểu hiện của gen, tuy nhiên nó cũng làm giảm quá trình sửa chữa DNA, dẫn đến tăng nguy cơ bị lỗi và xảy ra đột biến trong ung thư (chuỗi domino các đột biến). Các chất ức chế HDAC dùng trong lâm sàng bao gồm romidepsin (là peptide mạch vòng có nguồn gốc tự nhiên, liên kết disulfide bị khử thành dithiol và gắn kết với Zn^{2+} trong hẻm xúc tác của HDAC), vorinostat là dẫn xuất hydroxamic (nhóm hydroxamic tạo phức với Zn^{2+} của HDAC).

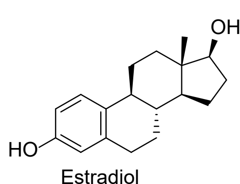
4.5. Điều trị hormone

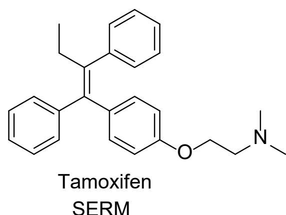
4.5.1. Chất đối vận với estrogen

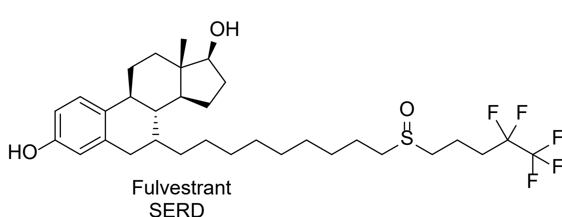
Tamoxifen, raloxifen: chất đối vận trên thụ thể estrogen ER+.

Fulvestrant: chất cảm ứng phân hủy thụ thể estrogen.

Anastrozole, letrozole: chất ức chế aromatase (ức chế tổng hợp estrogen).

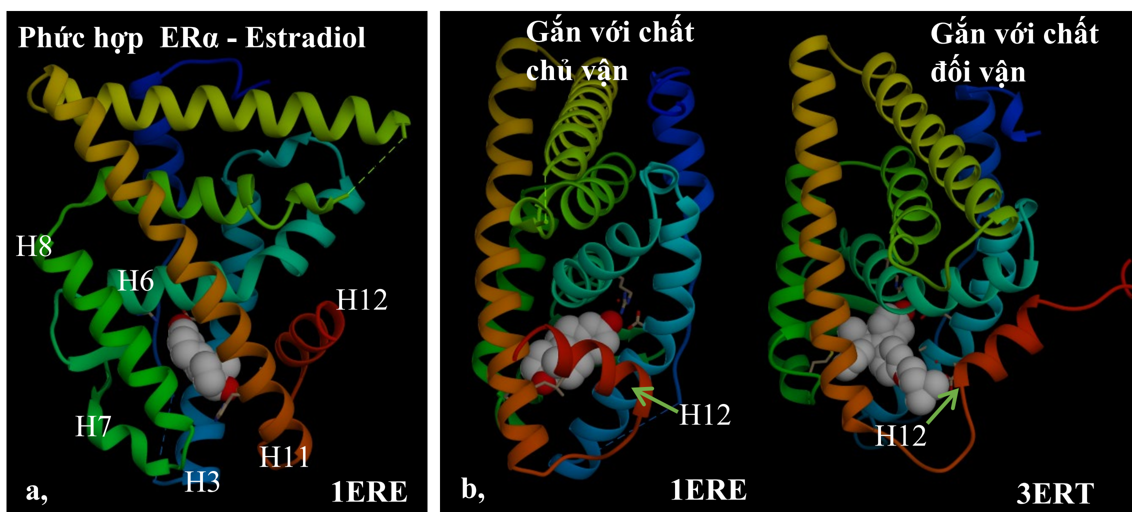






Chỉ định: cho ung thư vú có tăng biểu hiện của thụ thể ER+.

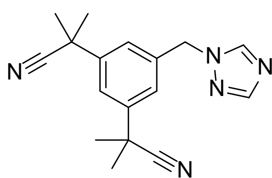
Hơn 80% các trường hợp ung thư vú có ER+, nghĩa là có sự tăng biểu hiện của thụ thể estrogen và khối u lệ thuộc vào estrogen để phát triển. Do đó điều trị hormone là một thành phần cơ bản trong trị liệu ung thư vú.



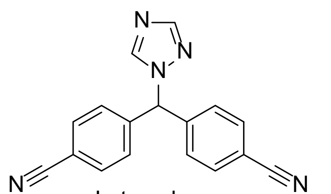
Hình 9.28. (a) Các helix alpha tạo thành túi gắn kết với ligand; (b) Vị trí khác nhau của helix H12 khi Erα gắn với chất chủ vận (estradiol) hoặc đối vận (4-hydroxyl tamoxifen)

Cấu trúc túi gắn kết của thụ thể estrogen ERα được tạo ra sự kết hợp của nhiều helix alpha khác nhau, trong đó có helix H12. Ở dạng gắn với chất chủ vận, H12 có cấu dạng đóng vào trong, khép kín túi gắn kết [48]. Cấu dạng này quan trọng trong việc tạo homodimer ER-ER và kích hoạt các domain khác của ER. Trong khi đó, các chất đối vận có nhóm thế cồng kềnh (*N,N*-dimethylaminoethoxy của tamoxifen hoặc chuỗi hydrocarbon dài của fulvestrant) hướng ra ngoài, ngăn không cho H12 gập vào trong và ngăn kích hoạt thụ thể.

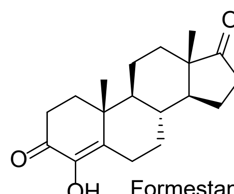
Tamoxifen là đối vận của estrogen trong điều trị ung thư vú, tuy nhiên vẫn giữ hoạt tính chủ vận ở một số cơ quan khác. Do đó, nó được phân loại là một SERM (Selective Estrogen Receptor Modulators), hay chất ức chế chọn lọc thụ thể ER. Fulvestrant là chất đối vận, gây xáo trộn cấu trúc của thụ thể và dẫn đến thụ thể bị loại bỏ như một protein bị lỗi, được coi như là một SERD (Selective Estrogen Degraders), hay chất cảm ứng phá hủy thụ thể ER.



Anastrozole
chất ức chế aromatase



Letrozole
chất ức chế aromatase



Formestane
Chất ức chế
aromatase
không thuận nghịch

Ức chế tổng hợp estrogen là một hướng đi trong điều trị hormone. Aromatase là enzyme có chứa cytochrome P450, thực hiện bước cuối cùng trong tổng hợp estrogen

(tổng hợp vòng thơm của estrogen). Các dẫn xuất anastrozole, letrozole ức chế thuận nghịch aromatase, trong đó, nhóm thế triazole đóng vai trò quan trọng trong việc tương tác với sắt trong nhân heme của CYP P450 trên aromatase. Formestane là chất ức chế không thuận nghịch, bắt chước cơ chất của enzyme và có tính chọn lọc cao hơn trên aromatase.

4.5.2. Các phương pháp điều trị hormone khác

- Điều trị dùng corticoid: tác lên thụ thể corticoid, làm giảm sự phân chia và gây chết tế bào cho các mô lympho.
- Điều trị dùng hormone LHRR (luteinizing hormone releasing hormone): buserelin, gosserelin là chất đối vận của thụ thể GnRH, làm giảm sự tổng hợp testosterone. Chỉ định trong ung thư tuyến tiền liệt.
- Điều trị kháng androgen: flutamide.

5. HÓA TRỊ LIỆU CỔ ĐIỂN

Khi tế bào ung thư không tăng biểu hiện các đích tác động của các phương pháp trị liệu nhắm trúng đích hiện hành, hóa trị liệu cổ điển đóng vai trò chính trong việc điều trị. Các thuốc hóa trị liệu cổ điển nhắm tới các tế bào đang phân chia nhanh, bằng cách (Hình 9.29):

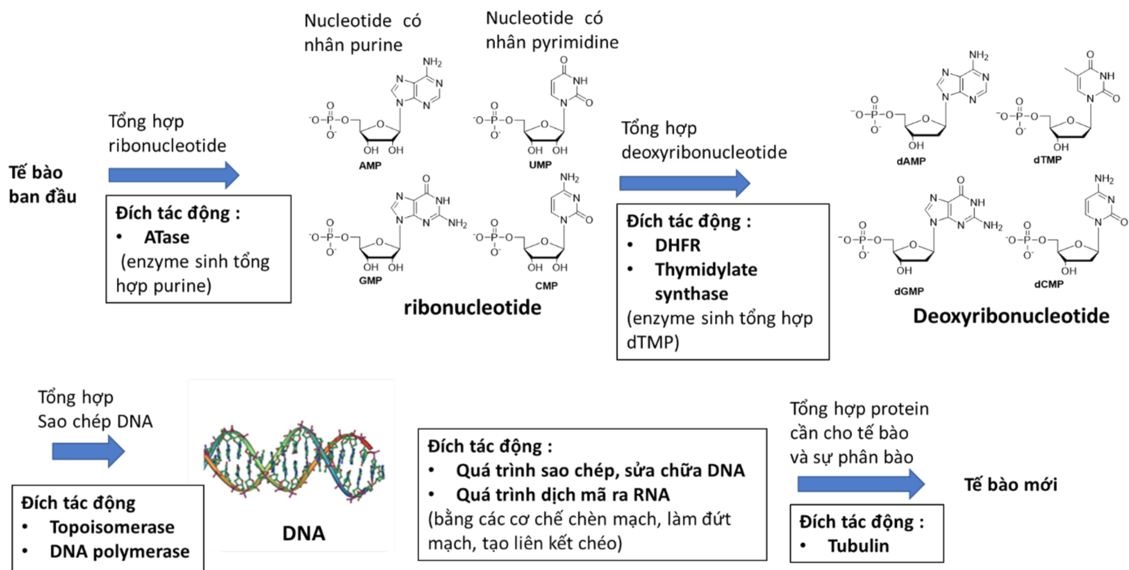
(1) Ức chế các enzyme sinh tổng hợp (deoxy)ribonucleotide nhân purine, pyrimidine dùng cho việc tổng hợp DNA (thuốc chống chuyển hóa).

(2) Ức chế enzyme tổng hợp DNA .

(3) Can thiệp vào cấu trúc DNA để ngăn quá trình sao chép dịch mã.

(4) Ức chế các protein quan trọng trong việc phân bào như tubulin.

Các enzyme, protein và DNA có trên cả tế bào bình thường, tuy nhiên do sự phân chia không kiểm soát của tế bào ung thư, chúng được sử dụng và biểu hiện nhiều hơn.

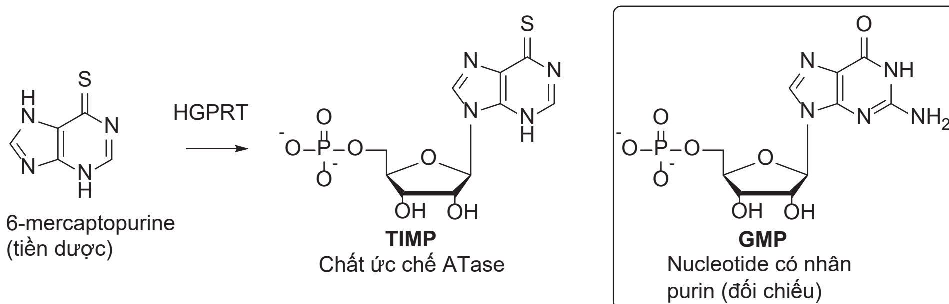


Hình 9.29. Các đích tác động của hóa trị liệu trong quá trình phân bào. ATase = Amidophosphoribosyltransferase, DHFR = dihydroforfate reductase

5.1. Chất chống chuyển hóa

5.1.1. Chất ức chế tổng hợp purine

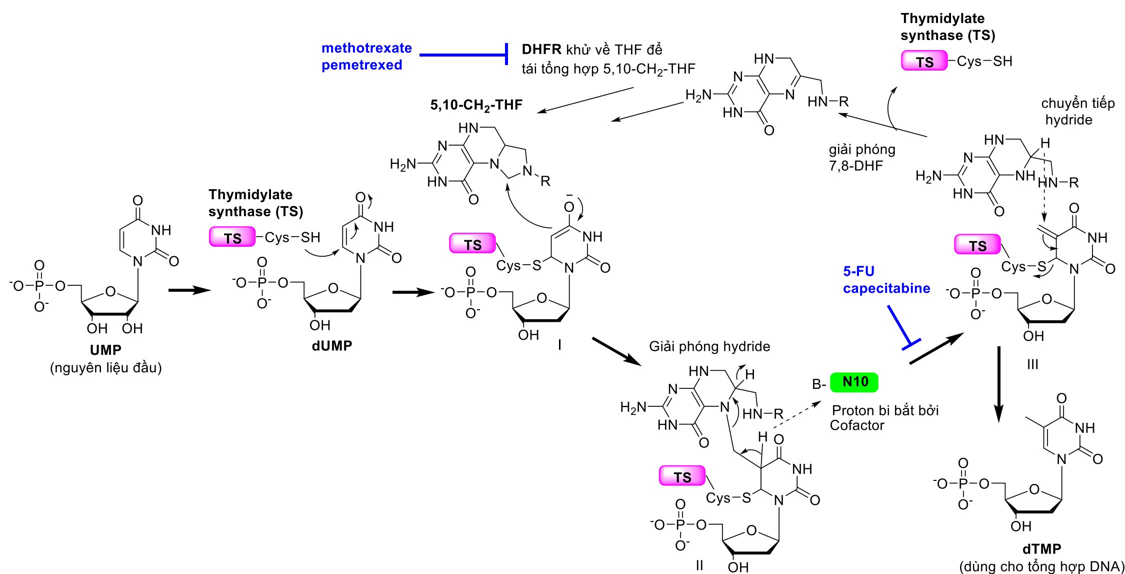
6-Mercaptopurine: chỉ định trong điều trị ung thư bạch cầu lympho cấp tính.



Mercaptopurine là tiền dược, sử dụng bằng đường uống hoặc tiêm truyền. Sinh khả dụng đường uống có thể giảm khi có thức ăn, chất được chuyển hóa chủ yếu ở gan. Để trở thành chất có hoạt tính, chất phải được chuyển hóa bởi enzyme HGPRT (hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase) thành TIMP (6-thioinosinic). TIMP là chất ức chế ATase, enzyme khởi đầu quá trình tổng hợp nhân purine của các nucleotide như GMP, AMP làm thiếu hụt nguồn nguyên liệu cho việc sao chép DNA và gây độc tế bào [25]. Một cơ chế khác của mercaptopurine là bắt chước các nucleotide nhân purine, được chuyển hóa và chèn vào DNA/RNA gây đứt mạch trong quá trình sao chép hoặc dịch mã. Một vấn đề đáng lưu ý là gene mã hóa enzyme HGPRT ở người có hiện tượng đa hình

(polymorphisme), cho ra enzyme có hoạt tính và mức độ biểu hiện thay đổi. Do đó cần xét nghiệm để biết trạng thái của HGPRT để biết và điều chỉnh liều cho phù hợp.

5.1.2. Chất ức chế tổng hợp dẫn xuất pyrimidine



Hình 9.30. Sơ đồ tổng hợp dTMP dưới xúc tác của enzyme thymidylate synthase và đồng cơ chất 5,10-CH_2-THF

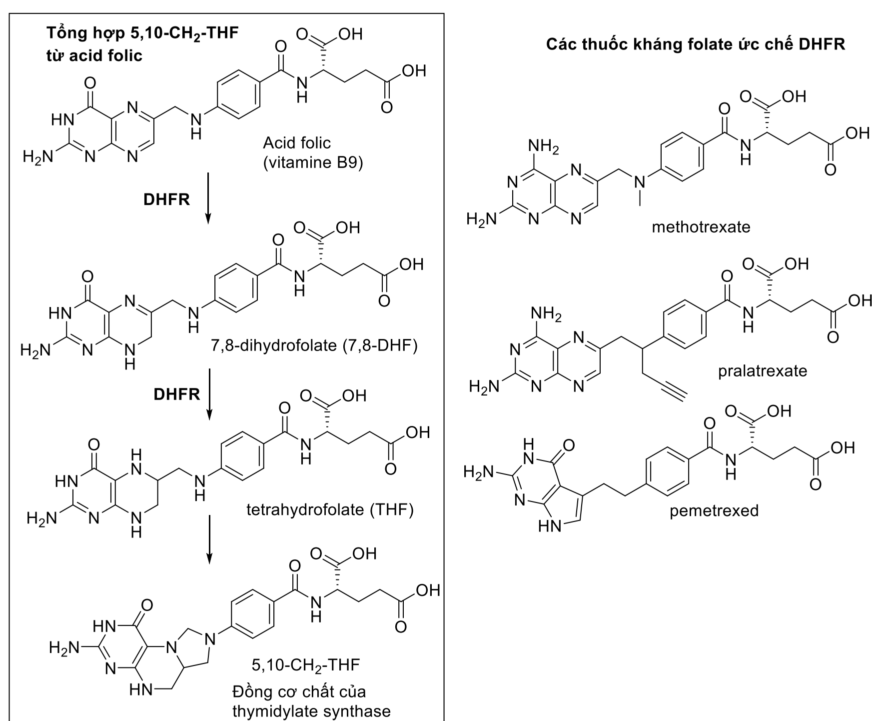
dTMP (deoxythymidine monophosphate) được tổng hợp từ deoxyuridine monophosphate (dUMP) (Hình 9.30). Trong bước đầu tiên, nhóm -SH của cysteine của thymidylate synthase (TS) cộng hợp với dUMP để tạo ra dẫn xuất trung gian I. Dẫn xuất trung gian I phản ứng với đồng cơ chất 5,10-CH_2-THF để tạo ra phức hợp trung gian II. Proton ở vị trí số 5 của II bị bắt bởi nhóm thế có tính base trên cofactor N10 của TS, xúc tác phản ứng tách loại giải phóng 7,8-DHF và chuyển tiếp hydride cho ra dTMP.

Cơ chất 5,10-CH_2-THF (được tổng hợp qua trung gian DHFR) và thymidylate synthase (TS) đóng vai trò quan trọng trong việc tổng hợp thymidine. Do đó DHFR và TS là các đích tác động quan trọng của các thuốc chống chuyển hóa trị ung thư.

5.1.2.1. Chất ức chế DHFR

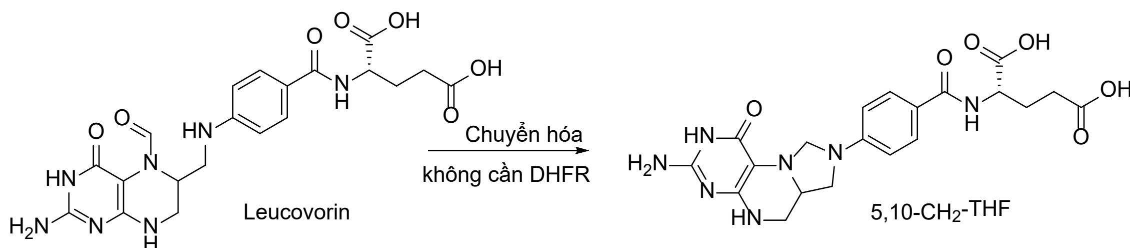
Methotrexate, pemetrexed, pralatrexate: chỉ định cho ung thư bạch cầu lympho cấp tính, ung thư bàng quang và các dạng ung thư vùng đầu cổ.

Dihydrofolate reductase (DHFR) là enzyme có nhiệm vụ khử folic acid thành dihydrofolate và sau đó khử dihydrofolate thành tetrahydrofale, dẫn xuất trung gian trong quá trình tổng hợp 5,10-CH_2-THF (cofactor của enzyme thymidylate synthase). Enzyme có tên là DHFR vì ái lực với dihydrofolate cao hơn so với folic acid.



Hình 9.31. Vai trò của DHFR trong tổng hợp folate và cấu trúc các chất ức chế DHFR

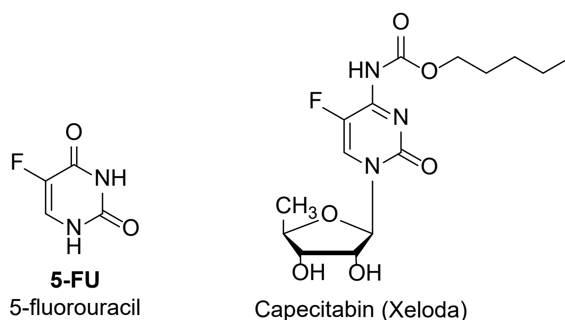
Các chất antifolate làm suy tủy xương, có độc tính trên hệ tiêu hóa, gan, thận. Leucovorin được sử dụng kèm theo để giảm độc tính của thuốc trên tủy xương. Leucovorin sau khi được vận chuyển vào trong tế bào (nhờ folate carrier) sẽ chuyển hóa thành 5,10-CH_2-THF mà không cần có sự hiện diện của DHFR (Hình 9.32), nhờ đó tạo ra dẫn xuất hoạt tính và bù đắp sự thiếu hụt cơ chất này.



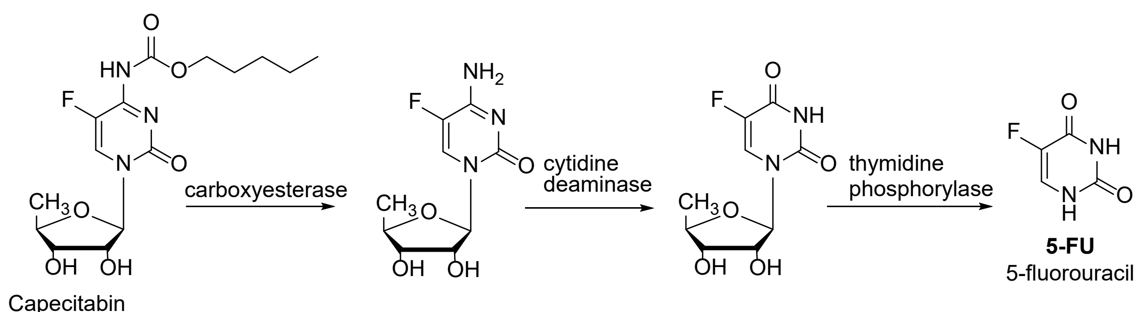
Hình 9.32. Chuyển hóa leucovorin thành 5,10-CH_2-THF không cần sự hiện diện của DHFR

5.1.2.2. Chất ức chế thymidine synthetase

5-Fluorouracil (5-FU) được chỉ định trong điều trị ung thư đại tràng, ung thư vú, ung thư dạ dày. Ngoài ra còn được chỉ định cho ung thư buồng trứng, ung thư tuyến tụy. **Capecitabin** được chỉ định cho ung thư đại tràng (phác đồ XELOX = Xeloda + oxaliplatin), ung thư vú.

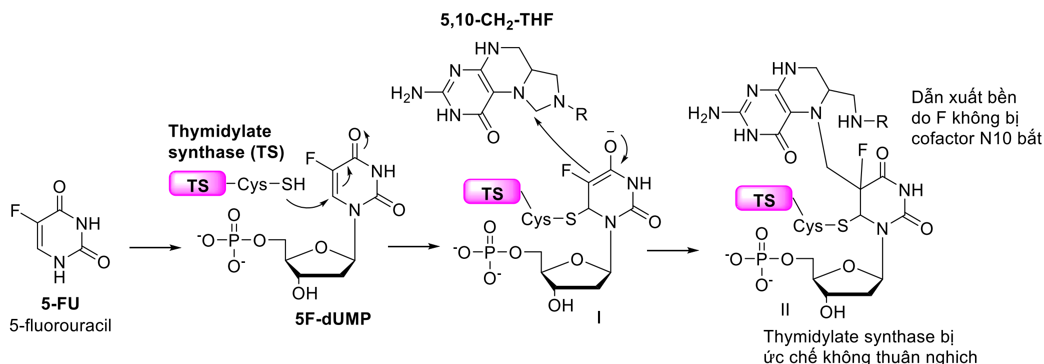


Capecitabin là tiền dược, có thể sử dụng bằng đường uống, sau khi chuyển hóa sẽ cho ra 5-FU (cũng là tiền dược). Việc chuyển hóa cần sự có mặt của thymidine phosphorylase (Hình 9.33). Enzyme này tăng biểu hiện ở tế bào ung thư dẫn đến tăng sự chọn lọc của capecitabin trên khối u. Nồng độ 5-FU được tạo ở khối u cao 3.5 lần so với môi trường xung quanh.



Hình 9.33. Chuyển hóa capecitabin thành 5-FU

5-FU sau khi chuyển hóa cho ra 5F-dUMP, bắt chước cơ chất dUMP của thymidylate synthase (Hình 9.30). Sau khi enzyme và cofactor 5,10-CH_2-THF phản ứng với 5F-dUMP, nhóm thế fluoro ở vị trí số 5 làm enzyme không thể thực hiện được phản ứng tách loại, dẫn đến cả enzyme lẫn cofactor bị gắn cố định với 5F-dUMP bằng liên kết cộng hóa trị và bị ức chế không thuận nghịch (Hình 9.34).



Hình 9.34. Cơ chế ức chế thymidylate synthase của 5-FU

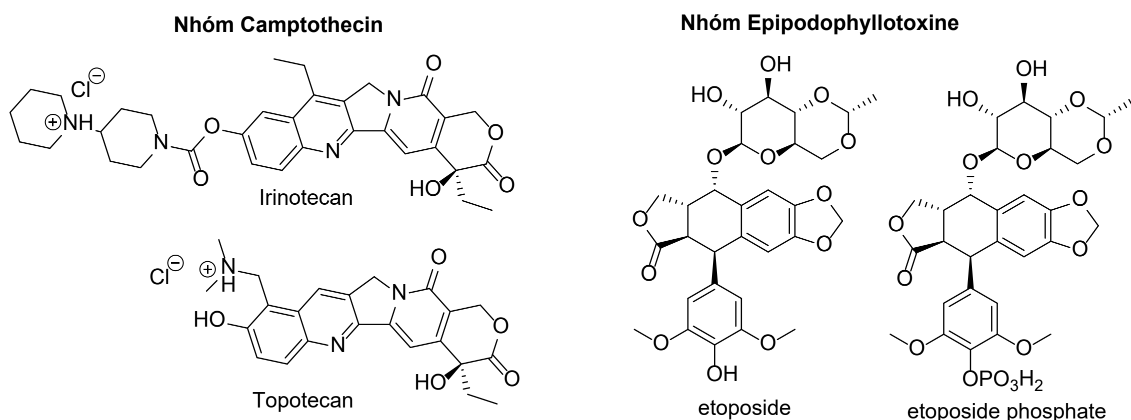
Leucovorin được dùng kèm với 5-FU vì nó chuyển hóa thành 5,10-CH_2-THF, cofactor cần thiết cho phản ứng giữa thymidylate synthase với 5-FU. Việc kết hợp làm tăng hiệu quả ức chế enzyme.

5.2. Chất ức chế quá trình tổng hợp DNA

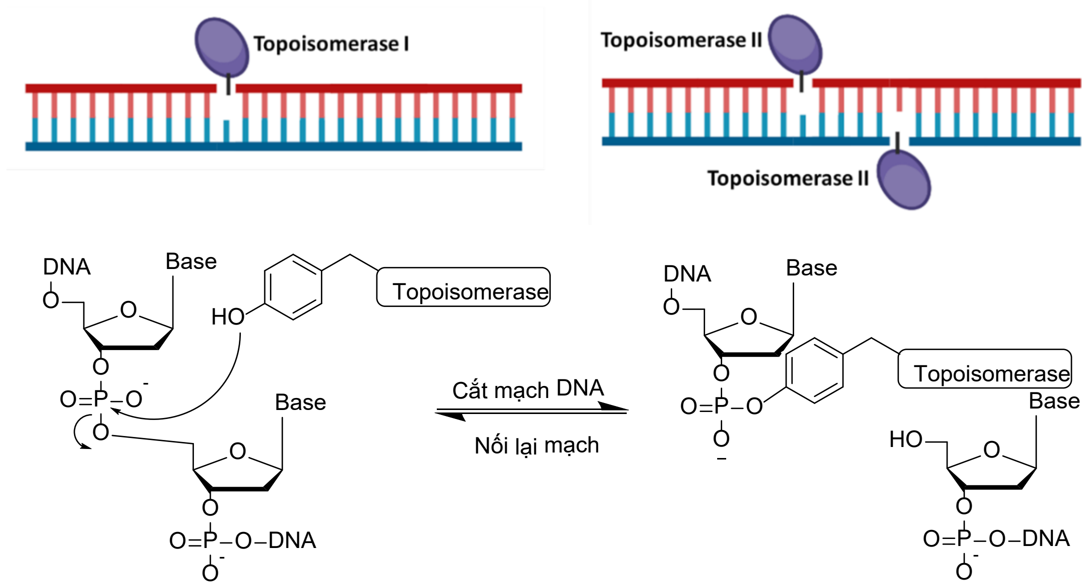
Các chất này có đặc điểm gây độc tế bào trong pha S (pha sinh tổng hợp DNA).

5.2.1. Chất ức chế topoisomerase - nhóm kháng sinh

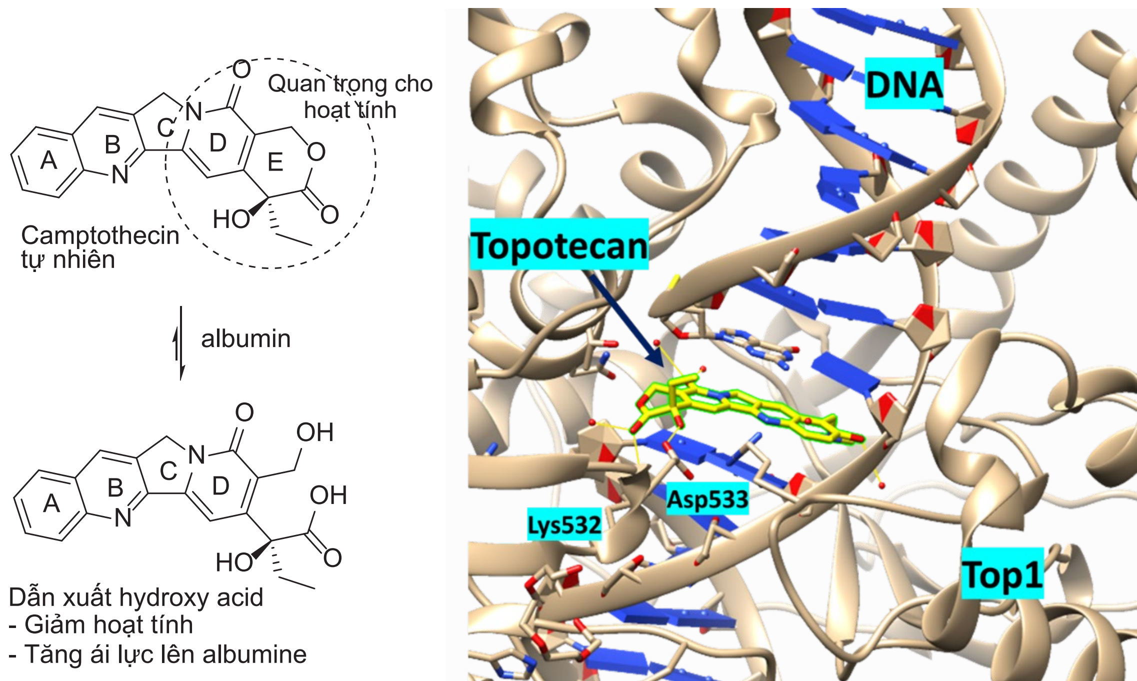
- Nhóm camptothecin (phân lập từ thảo dược chi Camptotheca): irinotecan, topotecan là các dẫn xuất bán tổng hợp của camptothecin. Nhóm này ức chế topoisomerase I. **Irinotecan** được chỉ định cho ung thư đại tràng khi kết hợp với leucovorin, 5-FU, oxaliplatin (phác đồ FOLFOXIRI); **Topotecan** được chỉ định cho ung thư buồng trứng kháng trị, ung thư phổi NSCLC.
- Dẫn xuất podophyllotoxin: **etoposide.** Nhóm này ức chế topoisomerase II. Được chỉ định cho ung thư phổi, hoặc ung thư tinh hoàn nếu kết hợp với bleomycine, cisplatin.



Topoisomerase (Top) là enzyme có vai trò tháo xoắn cấu trúc DNA để mở cấu trúc DNA cho quá trình dịch mã hoặc sao chép DNA. Topoisomerase I (Top1) cắt 1 mạch của chuỗi kép DNA trong khi Topoisomerase II (Top2) cắt cả 2 mạch (Hình 9.35). Các enzyme này cắt mạch bằng phản ứng thế ái nhân của nhóm phenol trên Tyr của Top và mạch phosphodiester của DNA, kết quả tạo ra liên kết ester giữa Tyr của Top và nhóm phosphate 3’ của DNA (thành phức hợp DNA-Top). Sau khi việc sao chép và dịch mã được hoàn thành, mạch DNA sẽ được nối lại và giải phóng nhóm -OH phenol của Top. Tuy nhiên khi phức hợp DNA-Top bị ức chế bởi các thuốc nhóm camptothecin, etoposide hay anthracyclin, liên kết cộng hóa trị giữa Top và DNA không bị phá bỏ, dẫn đến enzyme bị ức chế không thuận nghich, DNA bị đứt gãy và tế bào kích hoạt chết theo chương trình (apoptosis).



Hình 9.35. Cơ chế cắt mạch DNA của topoisomerase

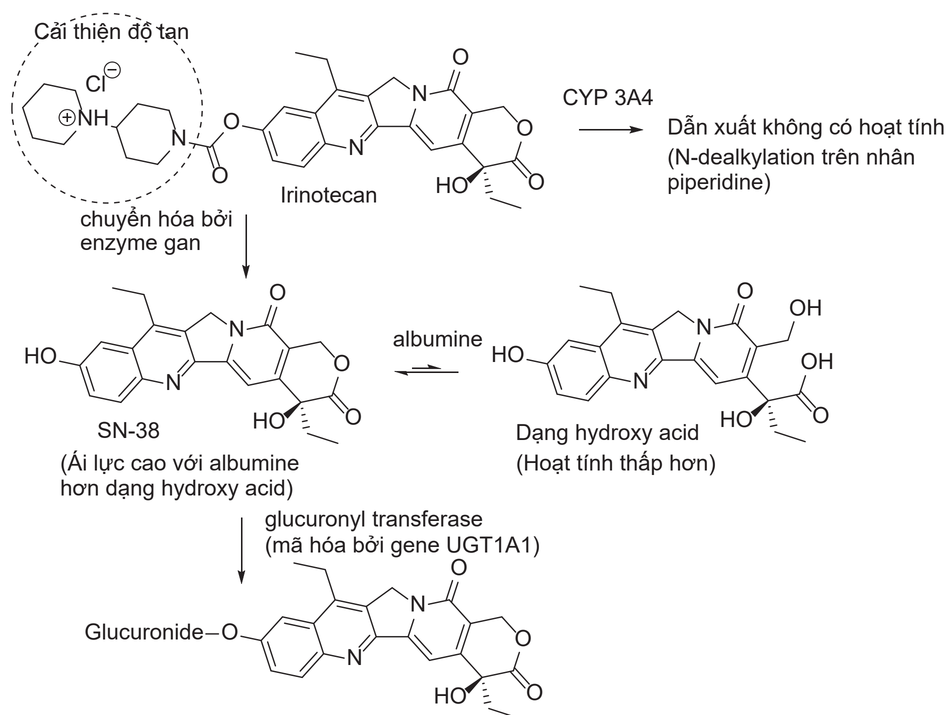


Hình 9.36. (Trái) Dạng lactone và dạng acid của camptothecin.
(Phải) Cấu trúc gắn kết của topotecan lên phức hợp DNA-topoisomerase I.
(PDB: 1K4T)

Dẫn xuất camptothecin không gắn vào DNA hay topoisomerase I (Top1) riêng rẽ mà chỉ gắn vào phức hợp giữa DNA và Top1. Vòng E nằm chiếm vị trí mạch đơn DNA bị cắt (Hình 9.36 - phải). Nhóm carbonyl vòng E của dẫn xuất camptothecin (topotecan) tạo liên hết hydro với Lys532, nhóm OH vòng E tạo liên kết hydro với Asp533 của Top1. Nhóm carbonyl vòng D tạo liên kết hydro với các phân tử nước nằm ở bề mặt tương tác giữa DNA và Top1. Hệ thống vòng thơm A, B, C, D chèn vào mạch DNA và tạo liên kết pi-pi với các nhân thơm của nucleotide.

Các cấu trúc quan trọng cho việc gắn kết lên topoisomerase I là vòng D (pyrimidone) và E (lactone) tương ứng trên camptothecin tự nhiên. Vòng A và B (nhân quinoline) có thể được gắn nhóm thế mà không ảnh hưởng nhiều đến hoạt tính. Vòng lactone E dễ bị thủy phân tạo ra dạng hydroxy acid có hoạt tính kém hơn (Hình 9.36 - trái). Camptothecin tự nhiên là chất kém tan và thân dầu do đó có tỷ lệ gắn với protein rất cao (> 80%). Dẫn xuất hydroxy acid gắn với albumin với ái lực cao hơn (do albumin là protein có tính kiềm) nên sự hiện diện của albumin làm cho cân bằng dịch chuyển về dạng hydroxy acid (chiếm 99%) [49], làm giảm hoạt tính. Tuy nhiên, ở pH acid của nước tiểu, cân bằng dịch chuyển ngược về dạng lactone dẫn đến độc tính nghiêm trọng trên thận. Các nhóm thế ion hóa trên trên nhân A (dẫn xuất piperidine trên irinotecan hay dimethylamine trên topotecan) giúp cải thiện độ tan, giảm ái lực với albumin và giảm ảnh hưởng của albumin lên cân bằng giữa dạng đóng và mở vòng E (Hình 9.37) [50].

Với irinotecan (tiền dược), sau khi chuyển hóa cho ra dẫn xuất SN-38 (Hình 9.37). Dẫn xuất SN-38 có hoạt tính và có ái lực cao với albumin (95% gắn với albumin). Tuy nhiên trong trường hợp SN-38, việc gắn albumin có lợi cho hoạt tính vì dạng đóng vòng lactone có ái lực với albumin cao hơn so với dạng hydroxy acid nên cân bằng dịch chuyển về dạng lactone. Việc chất gắn lên albumin chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố: tính acid - kiềm, tính thân dầu. Trong trường hợp của SN-38, sự hiện diện của nhóm phenol (tính acid) có thể giúp tăng đáng kể ái lực của dạng lactone của SN-38 lên albumin, trong khi đó dạng hydroxy acid phân cực hơn và việc thêm nhóm phenol không giúp cải thiện ái lực.

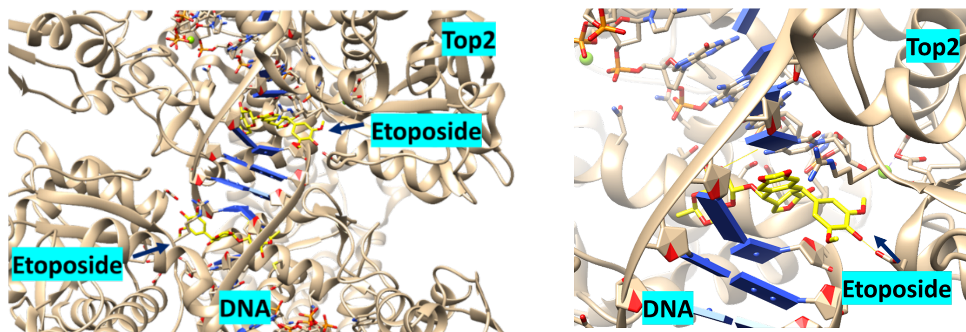


Hình 9.37. Các chất chuyển hóa của irinotecan

Dẫn xuất SN-38 được liên hợp với glucuronic acid nhờ glucuronyl transferase và đào thải qua đường tiểu. Ở người châu Á, gen mã hóa cho enzyme này là UGT1A1 có mức độ biểu hiện thay đổi, dẫn đến nguy cơ chịu độc tính cao hơn (nguy hiểm đến tính mạng). Việc xét nghiệm gen này là cần thiết để đảm bảo an toàn trong trị liệu.

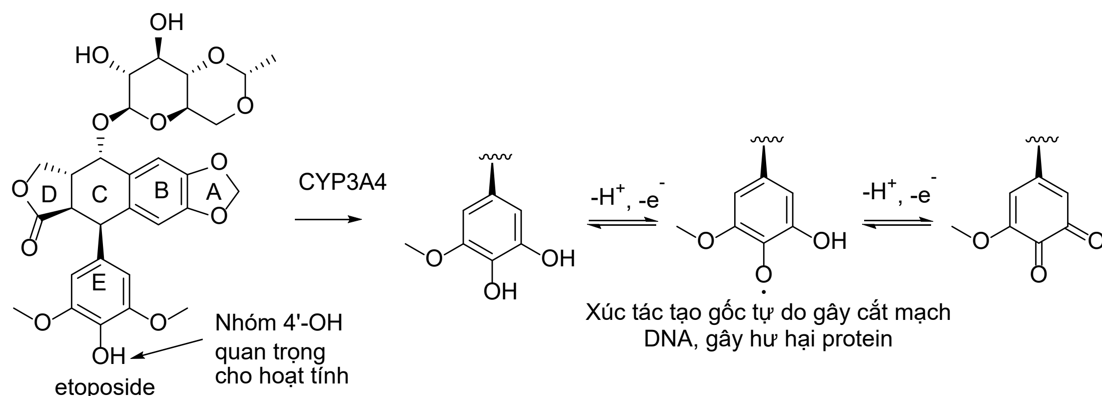
Irinotecan có thể gây tiêu chảy nặng gây đe dọa tính mạng.

Dẫn xuất podophyllotoxin ức chế topoisomerase II (Top2) và ức chế tubulin nhưng ức chế Top2 vẫn là cơ chế chính. Etoposide chỉ chèn vào mạch DNA khi có sự hiện diện của Top2 và ức chế sự hàn lại mạch DNA, gây đứt đoạn DNA và làm chết tế bào. Do Top2 cắt cả 2 mạch của DNA nên epotoside sẽ chèn vào cả 2 vị trí (Hình 9.38).



Hình 9.38. Cấu trúc etoposide gắn kết với topoisomerase II.
Cấu trúc tinh thể phức hợp DNA, Top2α và etoposide. PDB: 5GWK

Vòng C, D, E của etoposide đóng vai trò quan trọng trong tương tác với Top2 trong khi hệ thống vòng A, B, C, D chèn vào mạch DNA (Hình 9.38, 9.39). Nhóm đường ở vòng C không quan trọng cho việc gắn kết với enzyme nhưng có thể ảnh hưởng tới độ tan. Nhóm 4′-OH trên nhân E tương tác với Top2, có vai trò quan trọng cho hoạt tính, methyl hóa nhóm này làm mất hoạt tính của etoposide. Nhóm 4′-OH còn có thể bị oxy hóa thành dẫn xuất gốc tự do của phenol, xúc tác việc tạo gốc tự do gây đứt mạch DNA (và gây ra độc tính) (Hình 9.39).

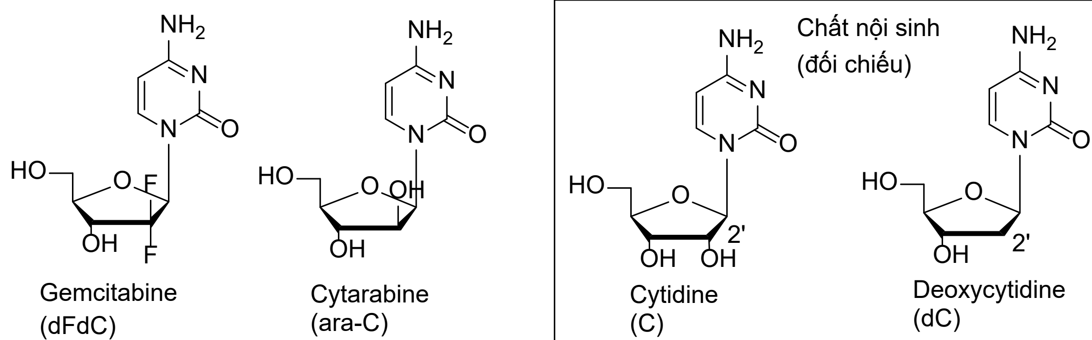


Hình 9.39. Cơ chế tạo gốc tự do phenol

Etoposide có độ tan kém, cần chất trợ tan như tween khi dùng ở dạng tiêm truyền. Các chất trợ tan này dễ gây phản ứng mẫn cảm cho bệnh nhân (tụt huyết áp, phản ứng viêm tạo cục máu đông - thrombophlebitis). Các phản ứng mẫn cảm có thể được kiểm soát bằng adrenaline, anti-histamine hoặc corticoid. Dẫn xuất etoposide phosphate có độ tan tốt hơn, có thể hòa tan trong các dung dịch nước tiêm truyền.

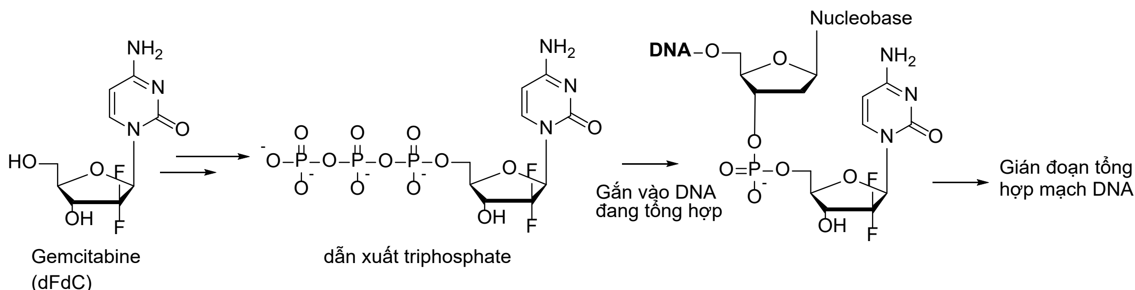
5.2.2. Chất ức chế DNA polymerase và gây dừng tổng hợp mạch DNA

Gemcitabine được chỉ định trong điều trị ung thư phổi không tế bào nhỏ NSCLC và ung thư tụy. **Cytarabine** được chỉ định trong điều trị ung thư bạch cầu dòng tủy cấp tính (AML, Acute Myelogeous Leukemia).



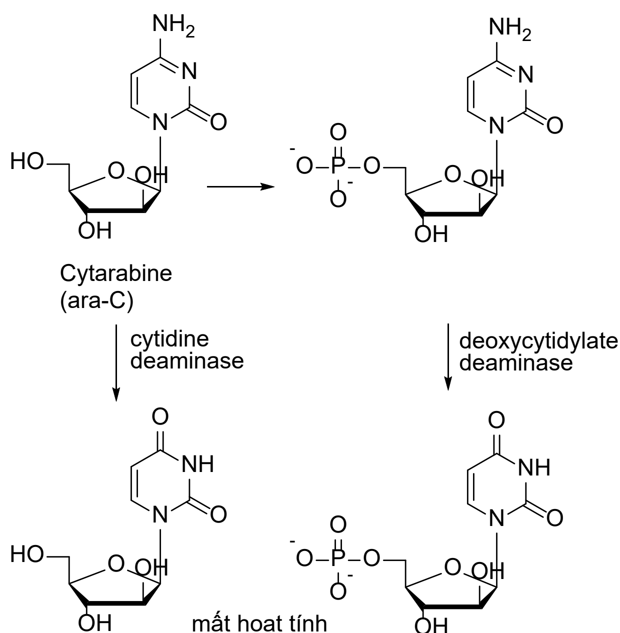
Gemcitabine (geminal fluoro = hai nguyên tử fluoro gắn trên cùng 1 carbon, cit = dẫn xuất của cytidine, abine = dẫn xuất của arabinose, đường có mạch 5 carbone), chỉ khác cytidine và deoxycytidine ở hai nhóm fluoro ở vị trí số 2′.

Cytarabine (cyt = dẫn xuất cytidine, arabine = dẫn xuất đường arabinose), là đồng phân quang học của cytidine nội sinh, chỉ khác ở cấu hình của nhóm đường ở vị trí số 2'.



Hình 9.40. Cơ chế tác động của gemcitabine

Gemcitabine và cytarabine sau khi được vận chuyển vào trong tế bào bởi nucleoside transporter sẽ được chuyển hóa thành dẫn xuất triphosphate và gắn vào chuỗi DNA hoặc RNA đang tổng hợp (Hình 9.40). Do có nhóm thế 2′ khác dẫn xuất nội sinh dC nên DNA/RNA polymerase bị ức chế và sự tổng hợp chuỗi DNA/RNA bị dừng lại. Dẫn xuất diphosphate của gemcitabine còn ức chế ribonucleoside reductase, enzyme loại bỏ nhóm OH ở vị trí số 2′ để tổng hợp deoxynucleotide từ nucleotide.



Hình 8.41. Các chất chuyển hóa của cytarabine

Cytarabine có thời gian bán thải 3.6 giờ, bị chuyển hóa bởi cytidine và deoxycytidylate deaminase thành chất không có hoạt tính (Hình 9.41). Gemcitabine có thời gian bán thải 19 h, dài hơn so với cytarabine, có thể do chất chuyển hóa triphosphate của chất này có khả ức chế deaminase.

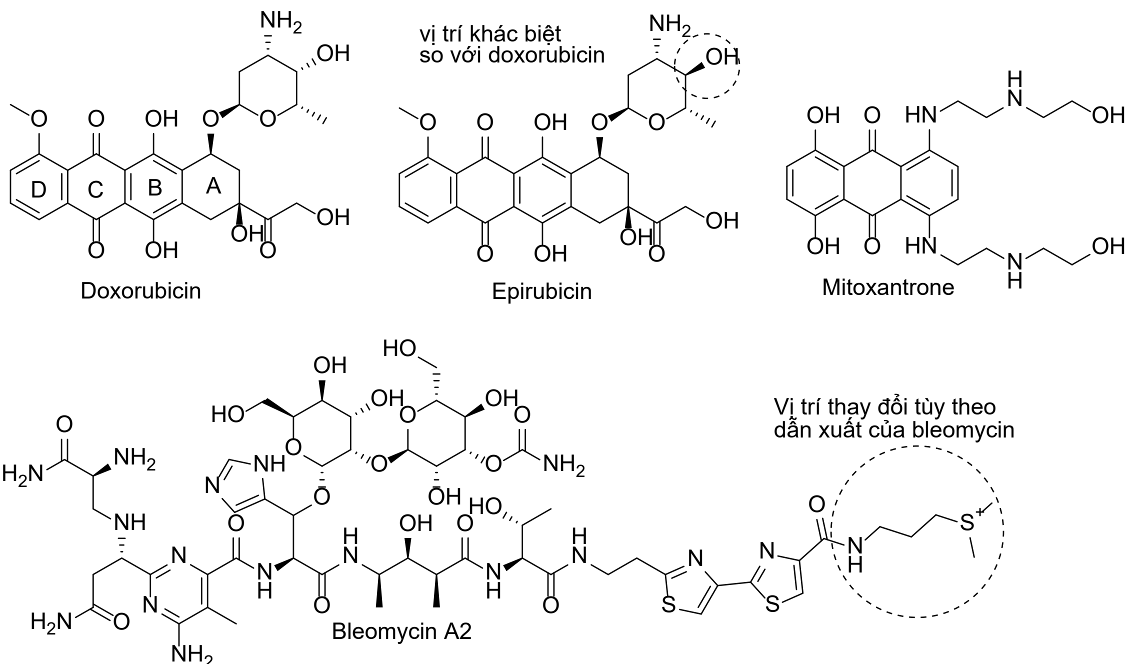
Các chất ức chế DNA polymerase với cơ chế tương tự, nhưng dựa trên nhân purine như fludarabine, claribine, nelarabine cũng đã được phát triển và sử dụng trong lâm sàng.

5.3. Chất tác động lên cấu trúc DNA

5.3.1. Chất chèn vào mạch DNA (intercaling agent) và tạo gốc tự do phá hủy DNA

Các chất này chèn vào cấu trúc DNA, ngăn quá trình sao chép, dịch mã. Các cơ chế khác bao gồm ức chế topoisomerase I, II và tạo gốc tự do phá hủy DNA.

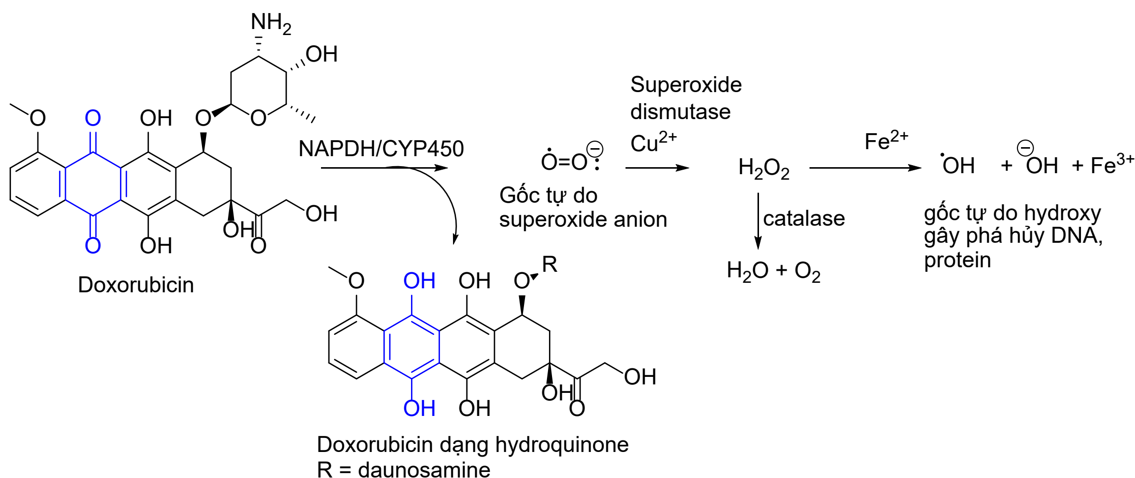
- Nhóm kháng sinh anthracycline: **doxorubicin, epirubicin, mitoxantrone.** Doxorubixin là một trong những thuốc trị ung thư sử dụng phổ biến nhất, chỉ định cho nhiều loại ung thư như ung thư phổi, ung thư vú (phác đồ 4AC-4P), ung thư bạch cầu lympho cấp (ALL, phác đồ CHOP). Các thuốc khác thuộc nhóm này là daunorubicin, idarubicin.
- **Bleomycin:** chủ yếu tạo gốc tự do gây cắt mạch DNA. Chỉ định cho ung thư tinh hoàn (phác đồ BEP) và ung thư lympho Hodgkin.



5.3.1.1. Nhóm anthracycline

Doxorubicin, epirubicin có khả năng chèn trực tiếp vào mạch DNA. Vị trí chèn của hoạt chất sẽ quyết định vị trí mạch DNA bị cắt bởi enzyme Top2. Nhiều giả thiết cho rằng sự tương tác của hoạt chất với Top2 xảy ra trước và giúp chất chèn vào DNA do các chất nhóm này có ái lực cao với Top2 ngay cả khi không có mặt DNA. Hệ thống vòng phẳng B, C, D tạo tương tác pi-stacking với các nucleobase của DNA. Sau khi chèn vào mạch, nó có khả năng ức chế phức hợp DNA-Top2. Nhóm đường daunosamine đóng vai trò quan trọng trong việc làm bền phức hợp DNA-Top2 bằng cách gắn vào DNA (vị trí minor groove).

Doxorubicin (hydrodaunorubicin) là chất hay được sử dụng nhất của nhóm này, là thành phần trong phác đồ phổ biến R-CHOP trị các loại ung thư bạch cầu (R-CHOP: Rituxan-Cyclophosphamide/Hydrodaunorubicin/Oncovin (vincristine)/Prednisone). Một cơ chế khác gây phá hủy DNA của doxorubicin là tạo gốc tự do, nhưng đây cũng là cơ chế chủ yếu gây độc tính trên tim của nhóm thuốc này.



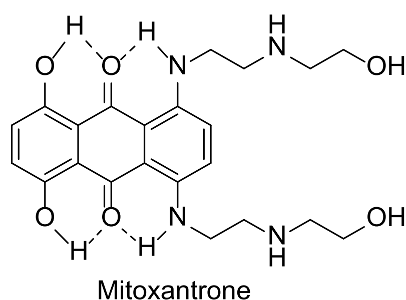
Hình 9.42. Cơ chế tạo gốc tự do gây độc trên tim của doxorubicin

Gốc tự do được tạo ra khi doxorubicin có nhân quinone, bị khử bởi CYP450 về hydroquinone và tạo ra sản phẩm phụ là gốc tự do superoxide anion ($O_2^{\cdot -}$) (Hình 9.42). Gốc tự do superoxide anion được chuyển hóa về hydrogen peroxide (H_2O_2) nhờ superoxide dismutase và được thủy phân thành nước và O_2 với sự hiện diện của catalase. Tuy nhiên nếu có sự hiện diện của Fe^{2+}, H_2O_2 có thể tạo ra gốc tự do hydroxy (OH·) gây tổn thương các mô, đặc biệt là mô tim do cơ tim chứa ít catalase hơn các mô khác. Các nhóm phenol và ketone của doxorubicin có thể tạo phức với sắt, dẫn đến việc tạo ra gốc tự do hydroxy hầu như chắc chắn. Doxorubicin có thể có dạng bào chế liposome giúp thuốc chọn lọc hơn trên khối u và bảo vệ thuốc khỏi các enzyme có khả năng khử nhân quinone và tạo gốc tự do.

Doxorubicin được dùng đường tiêm truyền, thời gian bán thải là 30 - 40 giờ, đào thải chủ yếu qua mật (phân), 50% ở dạng không đổi, dạng liên hợp glucuronide hoặc sulfate đào thải qua nước tiểu. Doxorubicin có màu cam đậm nên nước tiểu sẽ bị đổi màu đỏ cam. Ngoài độc tính nghiêm trọng trên tim, các tác dụng phụ khác bao gồm suy tủy, giảm bạch cầu, buồn nôn, nôn mửa, rụng tóc. Doxorubicin có độc tính cao với da, nếu tiếp xúc với da (vị trí tiêm truyền) có thể gây loét, nếu phân bố ra da có thể gây phồng rộp. Catheter phải được đặt cẩn thận để chất không bị thoát ra khỏi mạch máu gây hoại tử mô. Do độc tính cao, các nghiên cứu hiện nay đang tập trung vào việc tìm các chỉ dấu xét nghiệm để biết khi nào bệnh nhân có thể có lợi từ việc điều trị với các anthracycline như doxorubicin.

Bảo quản: như hầu hết các chất anthracycline, doxorubicin có nhiều nhóm phenol nhạy cảm với ánh sáng và không khí. Do đó dung dịch hoặc nhũ tương doxorubicin hydrochloride thường có pH 3 - 4 (tránh dạng phenolate dễ bị oxy hóa) được bảo quản quản tránh ánh sáng và ở nhiệt độ 2 - 8 °C.

Epirubicin khác với doxorubicine ở cấu hình nhóm -OH trên đường daunosamine. Sự khác biệt này làm giảm 60% khả năng bị khử về epirubicinol và tạo gốc tự do. Tuy nhiên epirubicin có xu hướng tích tụ trong mô tim nên nguy cơ độc tính vẫn cao. Về tổng thể, nguy cơ độc tính trên tim đã giảm 30% so với doxorubicin. Thời gian bán thải của epirubicin ngắn hơn so với doxorubicin, đào thải chủ yếu qua mật. Tác dụng phụ và lưu ý khi bảo quản tương tự doxorubicin. Epirubicin được chỉ định chủ yếu cho ung thư vú, ung thư dạ dày (phác đồ ECF = epirubicin/cisplatin/5-FU).



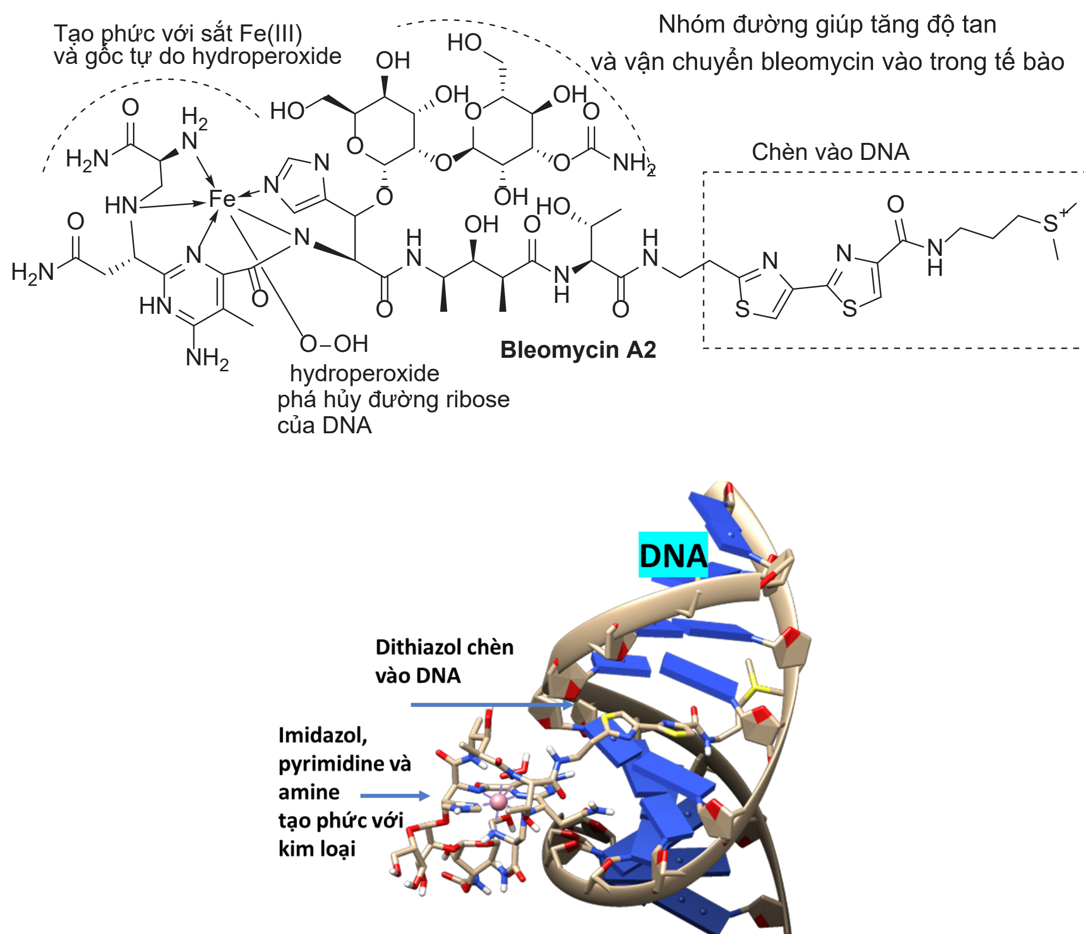
Hệ thống liên kết hydro nội phân tử
làm bền nhân quinone
-->
Giảm bị khử bởi NAPDH/CYP450

Mitoxantrone có hệ thống liên kết hydro nội phân tử làm bền nhân quinone, giảm khả năng bị khử bởi NADPH/CYP450 và tạo ra gốc tự do. Độc tính trên tim do đó giảm đáng kể. Nguy cơ hoại tử da và suy tủy cũng giảm đáng kể. Chất được chuyển hóa khử nhóm alkyl trên amine (N-dealkylation) và được đào thải qua mật. Mitoxantrone được chỉ định cho ung thư bạch cầu (non lymphoma) và ung thư tuyến tiền liệt kháng trị.

5.3.1.2. Bleomycin

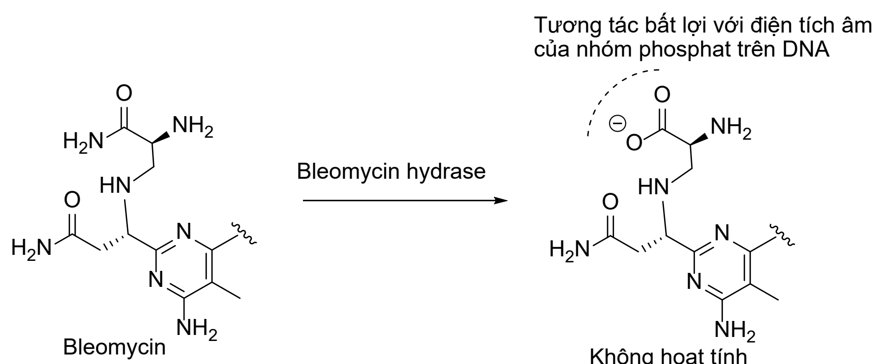
Bleomycin là hỗn hợp của nhiều glycopeptide khác nhau, trong đó chủ yếu là bleomycin A2 (chiếm 60%), chiết tách từ *Streptomyces verticillus*. Ban đầu chất tạo phức với Cu^{2+} nên quy trình tinh chế phải loại Cu^{2+} để có chất có hoạt tính. Chất dùng bằng

đường tiêm vì rất phân cực và cần được vận chuyển vào trong tế bào. Sự vận chuyển vào trong tế bào là nhờ các nhóm đường của bleomycin (Hình 9.43).



Hình 9.43. Mối liên hệ cấu trúc tác dụng của bleomycin
và cách gắn kết lên DNA (PDB: 1MXK). Ion trong cấu trúc là Co(III) thay cho Fe(III)

Nhân bisthiazole chèn vào mạch DNA trong khi nhân imidazole, pyridine và các amine tự do tạo phức với sắt và phản ứng với oxy tạo gốc tự do phá hủy mạch đường deoxyribose (Hình 9.43).



Hình 9.44. Chuyển hóa bleomycin gây mất tác dụng.

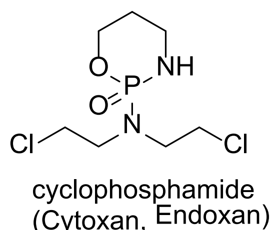
Bleomycin bị phân hủy bởi bleomycin hydrase (aminopeptidase) thành chất không có hoạt tính (do tạo ra điện tích âm của carboxylate, đẩy nhau với nhóm O-PO_3^- của mạch DNA) (Hình 9.44). Enzyme này có mặt ở hầu hết các mô trừ da và phổi. Do đó bleomycin có độc tính cao trên phổi và gây xơ phổi nghiêm trọng ở 10% bệnh nhân, đây là tác dụng phụ đáng lưu ý nhất khi dùng thuốc này. Da có thể bị mẩn đỏ hoặc rỗ sau 2 - 3 tuần điều trị với bleomycin.

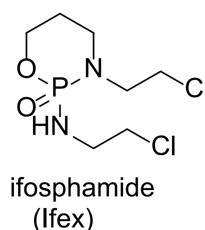
5.3.2. Chất tạo liên kết chéo trên mạch DNA

Các chất này phản ứng với DNA tạo liên kết cộng hóa trị (nhóm alkyl hóa) hoặc tạo phức hợp với DNA (nhóm platin). Kết quả là thay đổi cấu trúc nucleotide, tạo ra các cầu nối hỗn loạn giữa các nucleotide trên cùng 1 mạch hoặc giữa 2 mạch khác nhau dẫn đến DNA không thể được dịch mã hoặc sao chép. Các chất này gây độc chủ yếu ở cuối pha G1 và pha S khi mà sự sao chép DNA sắp bắt đầu và không còn nhiều thời gian để sửa chữa DNA.

5.3.2.1. Nhóm alkyl hóa

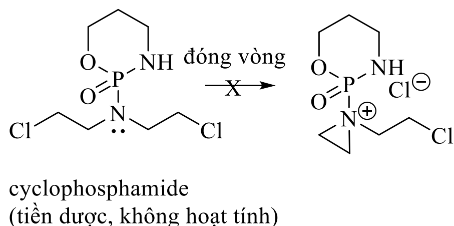
Cyclophosphamide, ifosphamide (dẫn xuất nitrogen mustard). **Cyclophosphamide** là dẫn xuất thường được sử dụng nhất trong nhóm, có phổ trị liệu rộng từ ung thư vú, ung thư lympho bào (phác đồ CHOP), ung thư mô liên kết (sarcoma) như xương, cơ, dây chằng. Các chất khác thuộc nhóm này bao gồm dẫn xuất nitrosourea (carmustine, lomustine - chỉ định cho ung thư não), dacarbazine (ung thư sắc tố da), temozolomide (ung thư não), dẫn xuất nitrogen mustard (melphalan - trị đa u tủy, chlorambucil - trị ung thư lympho bào mạn tính ALL), busulfan (ung thư bạch cầu hạt mạn tính).

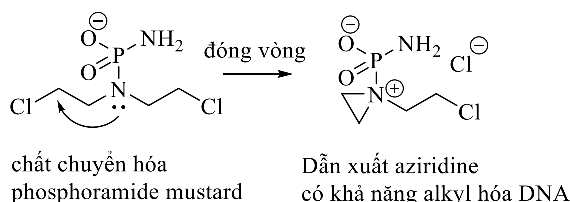




Cơ chế của các nitrogen mustard là tạo liên kết chéo (crosslinking) với DNA nên cần ít nhất 2 nhóm chloroethylamine. Mỗi nhóm sẽ phản ứng với 1 nucleotide riêng biệt.

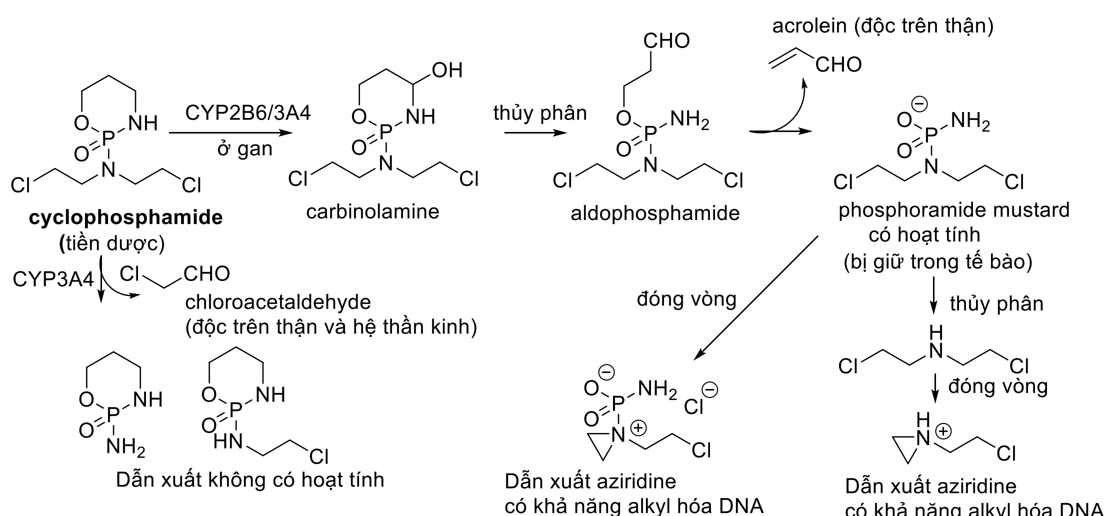
Cyclophosphamide là tiền dược, phải được chuyển hóa ở gan để trở thành chất có hoạt tính. Nhóm P=O phosphoramide hút điện tử, làm giảm tính ái nhân của nitơ và ngăn sự đóng vòng tạo thành dẫn xuất azaridine có tính alkyl hóa nên cyclophosphamide bản thân không có hoạt tính (Hình 9.45).





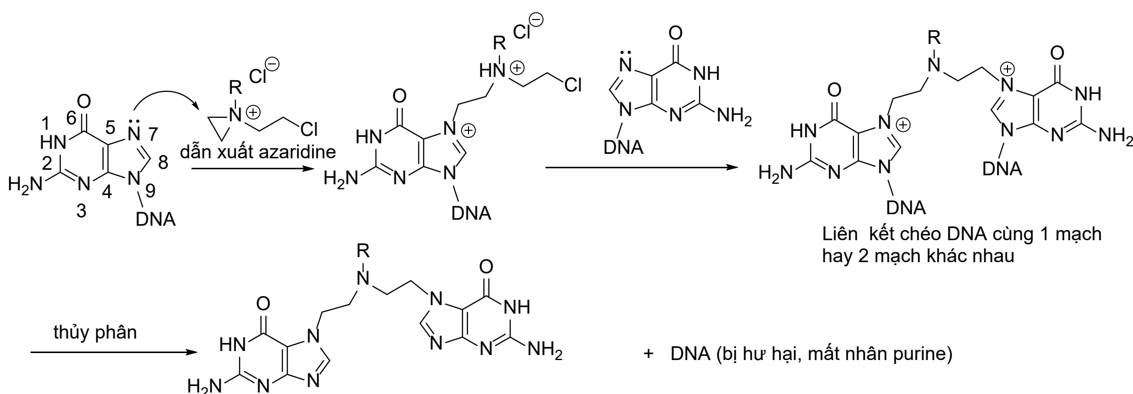
Hình 9.45. Cyclophosphamide là tiền dược và không có hoạt tính alkyl hóa

Quá trình hoạt hóa cyclophosphamide qua nhiều bước. Đầu tiên, chất bị các enzyme CYP2B6, CYP3A4, CYP2C oxy hóa, loại nhóm alkyl (N-dealkylation) tạo ra dẫn xuất carbinolamine, sau đó thủy phân thành aldophosphamide (Hình 9.46). Carbinolamine và aldophosphamide có thể thấm qua màng tế bào, tuy nhiên khi phân hủy thành phosphoramide mustard, chất này có pK_a 4.75 và bị ion hóa và giữ lại bên trong tế bào. Phosphoramide mustard là chất có hoạt tính, có thể alkyl hóa DNA bằng cách tạo ra các dẫn xuất aziridine và phản ứng với DNA.



Hình 9.46. Cơ chế hoạt hóa của cyclophosphamide

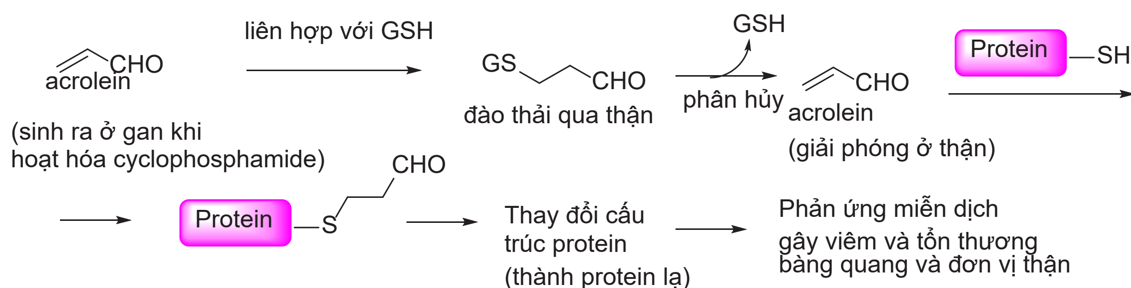
Các dẫn xuất azaridine thường phản ứng với guanine do nucleotide này có nitơ có tính ái nhân cao (giàu điện tử). Phản ứng tạo ra liên kết chéo gây rối loại cấu trúc DNA, tách loại nucleobase và phá hủy DNA (Hình 9.47). Các nucleotide khác cũng có thể tham gia phản ứng tương tự. Thứ tự hoạt tính khi phản ứng với azaridine lần lượt là: N7-guanine, N1- adenine, N3-cytosine và N3-thymine.



Hình 9.47. Phản ứng alkyl hóa của aziridine tạo liên kết chéo trên DNA, gây thủy phân và mất nhân purine

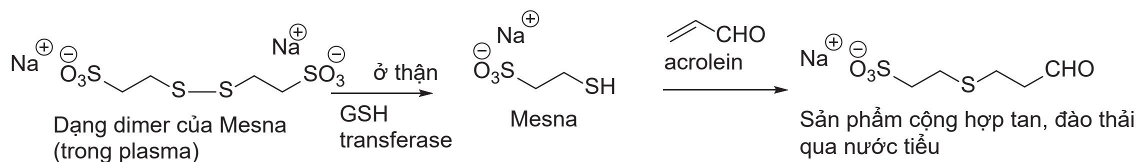
Cyclophosphamide có thể dùng bằng đường uống (vẫn có chế phẩm đường tiêm) với ít tác dụng phụ hơn những tác nhân alkyl hóa khác do là tiền dược. Tuy nhiên, quá trình hoạt hóa cyclophosphamide giải phóng acrolein hoặc chloroacetadehyde có độc tính trên thận. Nguyên nhân gây độc thận do acrolein và chloroacetaldehyde được sinh ra ở gan sẽ được liên hợp với glutathione và phức hợp được đào thải qua nước tiểu (Hình 9.48). Tuy nhiên, phức hợp này bị phân hủy tái tạo lại GSH và acrolein ở thận. Acrolein phản ứng

với nhóm thiol (Cys)/amine (Lys/Arg) của các tế bào biểu mô bàng quang hoặc đơn vị thận, gây phản ứng viêm. Độc tính có thể nghiêm trọng hơn khi kết hợp với các thuốc có độc tính trên thận như cisplatin. Liều phải được giảm khi bệnh nhận bị suy thận. Đối với với bệnh nhân suy gan, liều không thay đổi nhưng phải thận trọng khi dùng với các thuốc có thể ức chế CYP3A4, 2B6.



Hình 9.48. Cơ chế gây độc thận của acrolein

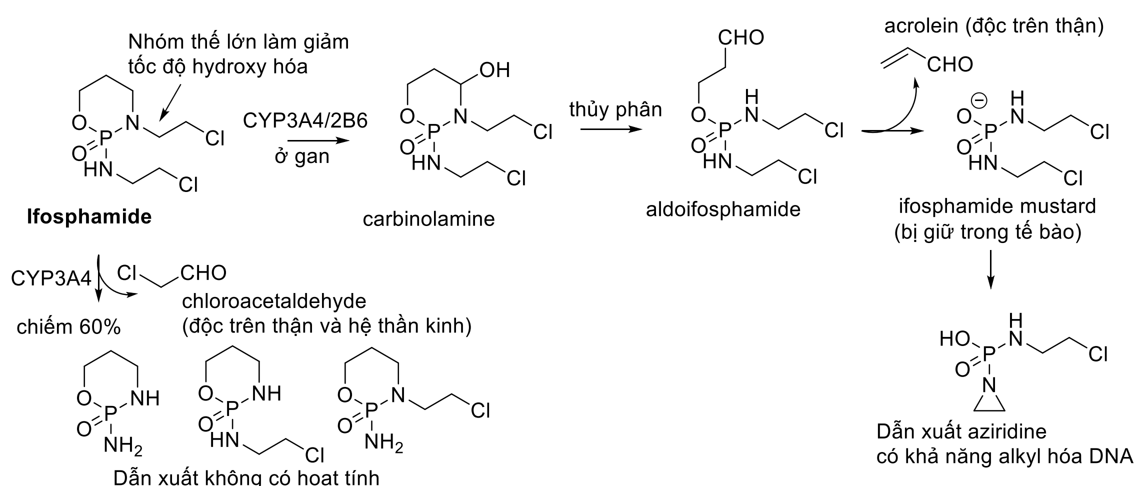
Mesna là một dẫn xuất có chứa nhóm thiol dùng để giảm độc tính của cyclophosphamide bằng cách phản ứng với acrolein (Hình 9.49). Do mesna được tập trung với nồng độ cao ở bàng quang nên hiệu quả bảo vệ cao ở cơ quan này. Cơ chế là cạnh tranh với nhóm thiol của protein phản ứng với acrolein. Tuy nhiên, hiệu quả bảo vệ không đáng kể trên đơn vị thận (nephron, bao gồm cầu thận và các ống lượn xa-gần, quai Henlé) vì nồng độ mesna thấp hơn nhiều.



Hình 9.49. Cơ chế giảm độc tính acrolein của mesna

Mesna không hiệu quả trong việc bảo vệ tế bào thận và thần kinh khỏi độc tính của chloroacetaldehyde. Chỉ khoảng 10% cyclophosphamide chuyển hóa theo con đường tạo ra chloroacetaldehyde. Tuy nhiên, nếu dùng liều cao, tỷ lệ có thể nhiều hơn và độc tính sẽ rất đáng kể.

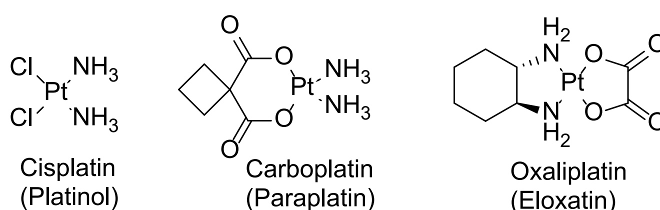
Ifosfamide có cũng cơ chế hoạt hóa như cyclophosphamide, dùng đường tiêm IV do đường uống có độc tính cao hơn trên hệ thần kinh trung ương (có thể do chuyển hóa trong hệ tiêu hóa tạo ra nhiều chloroacetaldehyde). Do có nhóm thế trên phosphamide vòng nên phản ứng hydroxy hóa tạo carbinolamine chậm hơn (Hình 9.50). Do đó, phản ứng loại nhóm chloroethyl gia tăng, chiếm 60% liều sử dụng, tạo ra chloroacetaldehyde gây độc tính trên thận và thần kinh. Mesna không có tác dụng trong trường hợp này và dẫn xuất *N*-acetylcysteine có thể được sử dụng với hiệu quả nhất định.



Hình 9.50. Cơ chế hoạt hóa của ifosfamide

5.3.2.2. Nhóm platin

Dẫn xuất platin gồm **cisplatin, oxaliplatin, carboplatin** được sử dụng phổ biến cho việc điều trị nhiều loại ung thư như ung thư phổi (cisplatin + docetaxel), ung thư tinh hoàn (BEP = bleomycin/etoposide/cisplatin), buồng trứng (carboplatin + docetaxel/paclitaxel), bàng quang (cisplatin + xạ trị).



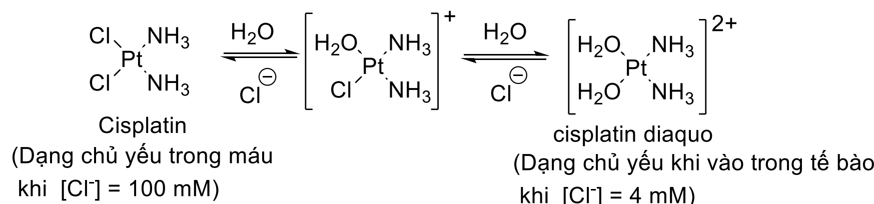
Hoạt tính độc tế bào của cisplatin được Rosenberg phát hiện vào năm 1969 khi ông và cộng sự nghiên cứu tác dụng dòng điện lên sự phát triển của *E.coli*. Một phần điện cực Pt bị ăn mòn đã tạo ra cisplatin, làm chết tế bào hoặc bắt chúng kết nối với nhau thành sợi dài (filament). Hoạt tính diệt tế bào ung thư sau đó được quan sát trên ung thư lymphoma và sarcoma ở chuột.

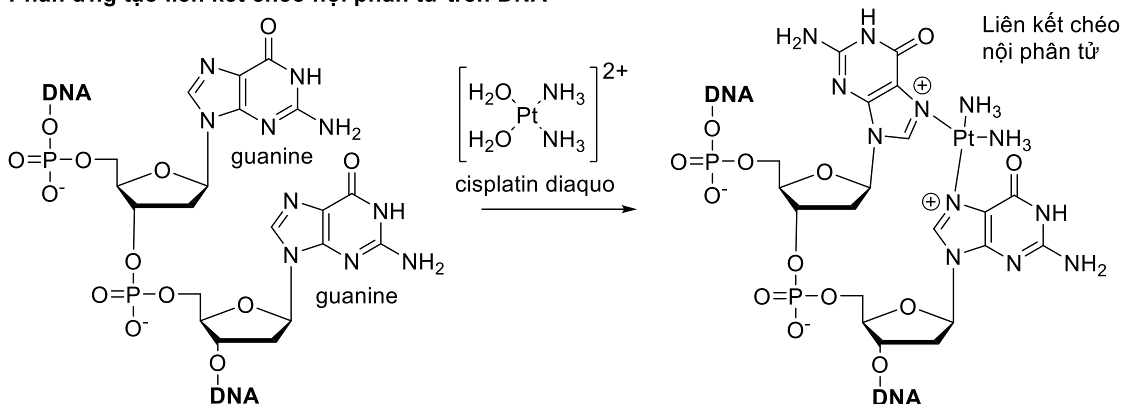
Cisplatin được biết đến nhiều nhất trong điều trị ung thư tinh hoàn. Ý tưởng dùng kim loại nặng để trị ung thư ban đầu gặp nhiều ý kiến trái chiều. Tuy nhiên các thử nghiệm lâm sàng cho thấy phác đồ chứa cisplatin có tính đột phá, giúp giảm 2/3 trường hợp tử vong do ung thư tinh hoàn và đưa tỷ lệ chữa khỏi loại ung thư này lên trên 90% [56]. Cisplatin được FDA chấp thuận vào năm 1978 và sau đó nó được sử dụng rộng rãi để điều trị nhiều loại ung thư khác. Các dẫn xuất platin được sử dụng bằng đường tiêm truyền do độc tính cao và gây kích ứng mạnh. Cisplatin gây nôn mửa (ngay cả đường IV),

phản ứng xảy ra ở tất cả bệnh nhân nếu không dùng kèm thuốc chống nôn nhóm -setron (odasetron, granisetron).

Cisplatin mang platinum (Pt) hóa trị II với 4 phối tử: 2 nhóm ammine (ammoniac) và 2 nhóm chloride, trong đó, hai nhóm chloride mang điện tích âm giúp trung hòa điện tích dương của Pt^{2+}. Nó có cấu trúc phẳng. Cân bằng nội môi của ion chloride (Cl^-) có vai trò quan trọng trong hoạt tính và độc tính của cisplatin. Trong môi trường nội bào có nồng độ chloride thấp, cisplatin bị hydrate hóa, thay hai phối tử chloride bằng 2 phối tử nước (H_2O) tạo thành cisplatin diaquo. Do 2 phối tử nước không mang điện tích nên điện tích dương của Pt^{2+} được bộc lộ và tăng tính ái điện tử của phức hợp (Hình 51).

Cisplatin diaquo phản ứng với nitơ ở vị trí N7 của guanine, tạo liên kết chéo nội phân tử DNA giữa 2 guanine liền kề. Liên kết chéo giữa 2 mạch có thể xảy ra nhưng hiếm hơn. Liên kết chéo nội phân tử làm mạch DNA bị gập lại 1 góc 60 - 80° và không thể dịch hay sao chép mã, gây đứt mạch DNA (do enzyme Top khi cố gắng dịch mã) và chết tế bào (Hình 9.51). Cisplatin diaquo cũng phản ứng với các nhóm thiol trên protein làm bất hoạt thuốc. Transplatin là đồng phân của cisplatin, cũng có khả năng tạo liên kết với DNA, tuy nhiên do cấu dạng hình học nên liên kết tạo ra không ảnh hưởng nhiều đến cấu trúc của DNA, do đó không gây độc tế bào.

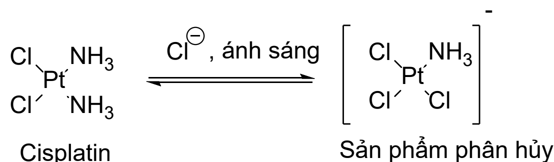




Hình 9.51. Cơ chế hoạt động của cisplatin

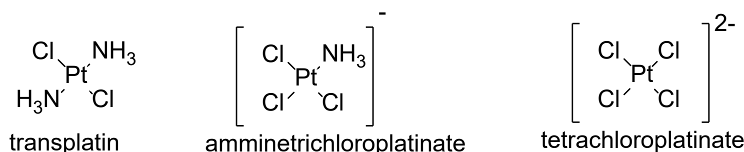
Do cisplatin có thể bị hydrate hóa trong môi trường nước do đó dạng bào chế thường là dạng bột sấy đông và chỉ pha chế trước khi sử dụng. Thuốc thường được pha chế

trong NaCl 0.9%. Sự hiện diện của ion chloride và pH < 6.89 quan trọng cho độ bền của cisplatin. Cisplatin phản ứng với nhôm tạo tủa ($Pt[NH_3]_2Cl_2 + Al \rightarrow Pt$ (tủa) + $AlCl_3$), làm mất hoạt tính nên không được sử dụng kim tiêm hoặc dụng cụ chứa nhôm. Chất nhạy cảm với ánh sáng nên cần bảo quản tránh ánh sáng. Dung dịch cisplatin bị phân hủy dưới ánh sáng tạo ra tạp amminetrichloroplatinate (Hình 52) [51].

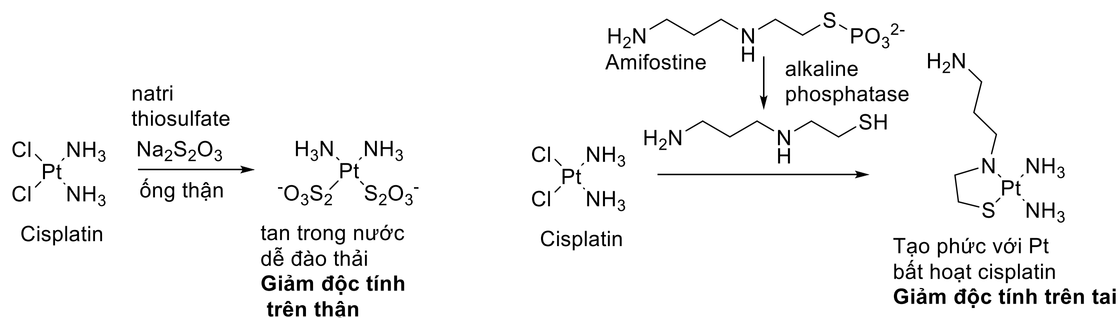


Hình 9.52. Cơ chế phân hủy cisplatin dưới tác động của ánh sáng

Do đó amminetrichloroplatinate là một trong 3 tạp cần kiểm trong chế phẩm cisplatin bên cạnh transplatin và tetrachloroplatinate theo Dược điển châu Âu 10:



Cisplatin có thời gian bán thải thấp dưới 30 phút, do nhanh chóng bị hydrate hóa. Chất được đào thải chủ yếu qua thận và độc tính trên thận là yếu tố đáng lo ngại nhất khi sử dụng cisplatin. Để giảm độc tính trên thận, bệnh nhân cần được bổ sung nước đầy đủ bằng dung dịch có chứa ion chloride (Cl^-), đảm bảo nồng độ chloride trong nước tiểu. Việc này giúp tăng đào thải cisplatin và các dẫn xuất thủy phân của nó. Sodium thiosulfate cũng được dùng để giảm độc tính trên thận của cisplatin vì chất này tích tụ ở ống thận và phản ứng với cisplatin tạo thành dẫn xuất dễ tan (Hình 9.53). Cisplatin trong máu gắn rất chặt với nhóm thiol của albumin nên ít phản ứng với sodium thiosulfate, ngay cả việc lọc máu cũng không giúp giảm độc tính của chất trên thận [25]. Cần giảm liều khi kết hợp với các thuốc độc trên thận khác như cyclophosphamide.



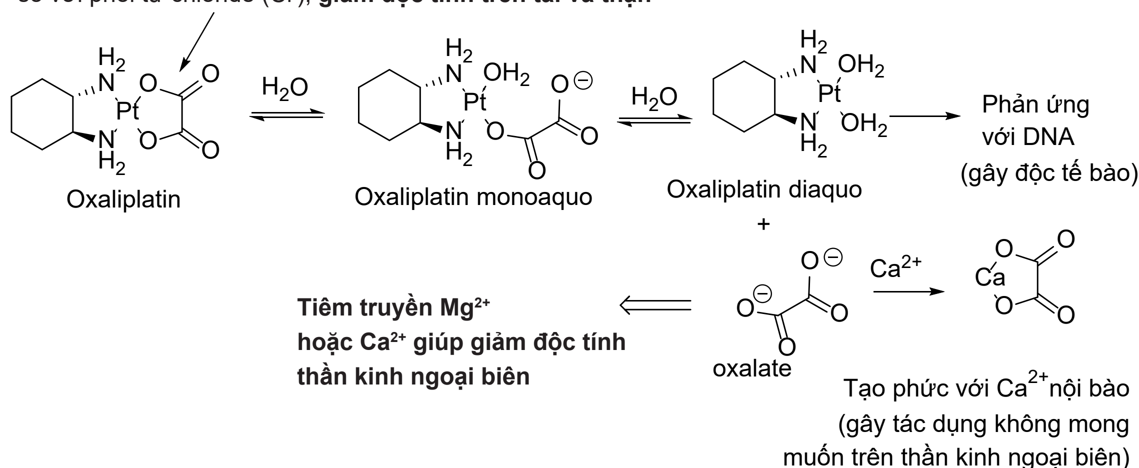
Hình 9.53. Cơ chế giảm độc tính cisplatin của natri thiosulfate và amifostine

Cisplatin có thể gây mất thính giác không thuận nghịch, đặc biệt ở trẻ em. Tiền dược amifostine có thể giúp giảm độc tính của cisplatin trên tai bằng cách giải phóng dẫn xuất thiol để vô hiệu hóa cisplatin (Hình 9.53). Việc chuyển hóa amifostine thành dẫn xuất thiol được thực hiện bởi alkaline phosphatase, enzyme này có nhiều ở các mô bình thường nên giúp giảm độc tính mà không ảnh hưởng tới hiệu quả trị liệu với cisplatin [25]. Tác dụng phụ khác của cisplatin bao gồm buồn nôn (ở 100% bệnh nhân sử dụng) và gây suy tủy. Cisplatin có thể gây ra ung thư thứ cấp, thường là ung thư bạch cầu, xuất hiện khoảng 4 năm sau khi điều trị [52].

Đề kháng cisplatin có nhiều cơ chế, bao gồm (1) giảm hấp thu qua màng tế bào bởi transporter CTR1; (2) tăng phá hủy bằng liên hợp với dẫn xuất chứa Cys/Met; (3) tăng sửa chữa lỗi DNA do cisplatin nhờ tăng hoạt động của NER (nucleotide-excision repair proteins) và giảm hoạt tính của MMR (mismatch repair proteins). MMR cũng là protein sửa lỗi mã di truyền DNA, tuy nhiên sau vài lần sửa chữa thất bại sẽ kích hoạt chết tế bào theo quy trình (apoptosis).

Carboplatin có chỉ định khá tương tự cisplatin, dùng điều trị ung thư buồng trứng. Thuốc có cơ chế tác động tương tự cisplatin nhưng độc tính thấp hơn nhờ sự hiện diện của ligand dicarboxylate giúp tăng khả năng đào thải và giảm ái lực với albumine. Do carboxylate là nhóm rời đi yếu hơn Cl^- nên phản ứng hydrate hóa hoặc cộng hợp với Cys của albumine chậm lại. Carboplatin có thời gian bán thải 2 - 3 giờ (so với 30 phút đối với cisplatin). Thuốc đào thải qua đường tiểu nên vẫn phải giảm liều ở bệnh nhân có bệnh thận.

Oxaliplatin được chỉ định cho ung thư đại tràng (phác đồ XELOX) và một số ung thư đường tiêu hóa khác. Chất có phối tử diamino cyclohexane (DACH) thay cho hai phối tử diammine (như của cisplatin và carboplatin). Sự thay thế này có phép gắn kết hiệu quả hơn lên DNA. Nhóm rời đi cũng là carboxylate (oxalate) góp phần làm giảm tốc độ hydrate hóa so với nhóm chloride của cisplatin và giảm đáng kể độc tính trên thận và tai (Hình 9.54). Oxaliplatin có phổ tác dụng khác hẳn so với cisplatin/carboplatin, có thể vượt qua đề kháng các thuốc này. Sự khác biệt có thể được giải thích một phần bởi oxaliplatin không phụ thuộc transporter CTR1 để đi qua màng tế bào và cũng không phụ thuộc protein MMR để gây chết tế bào như cisplatin và carboplatin.



Hình 9.54. Cơ chế hoạt hóa của oxaliplatin

Tác dụng phụ của oxaliplatin bao gồm xơ hóa phổi và bệnh thần kinh ngoại biên (gây mệt mỏi, yếu, đau tay chân ở 75% bệnh nhân nhận liều từ 1560 mg/m^2 trở lên) [52]. Nguyên nhân có thể do phối tử oxalate của oxaliplatin sau khi phân ly có thể tạo phức với Ca^{2+} làm ảnh hưởng tới hoạt động các kênh ion ở tế bào thần kinh ngoại biên. Tiêm truyền muối của Mg^{2+} hoặc Ca^{2+} có thể giảm độc tính này (Hình 9.54). Thuốc có thể gây buồn nôn nhưng kiểm soát được bằng các chất chống nôn nhóm -setron (đối vận thụ thể serotonin 5-HT3).

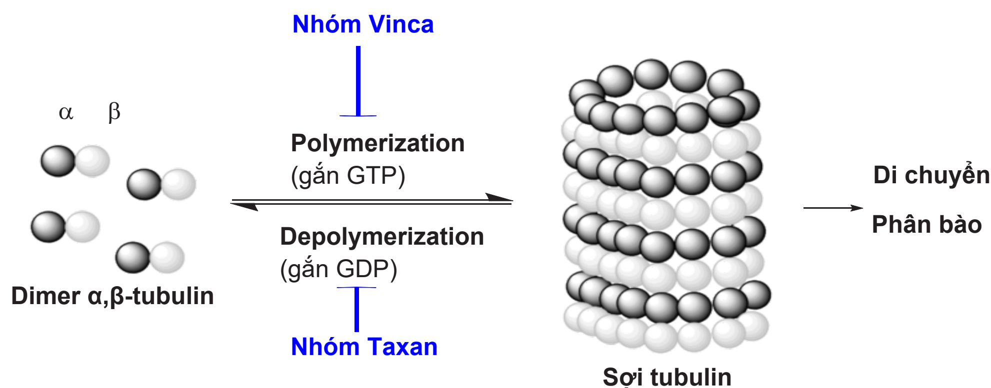
Về sử dụng, thuốc bị thủy phân trong môi trường kiềm do đó không nên dùng chung với các dung dịch có pH cao.

5.4. Chất chống phân bào - ức chế tubulin

Tubulin là một protein quan trọng của khung tế bào (cytoskeleton), quyết định hình dạng và khả năng di chuyển của tế bào. Khung tế bào còn đóng vai trò quan trọng trong việc vận chuyển các protein nội bào, túi tiết (vesicles) và các bào quan (organelles). Trong quá trình phân bào, tubulin kết nối với nhau tạo thành thoi phân bào (mitotic spindle), giúp phân chia nhiễm sắc thể và hình thành tế bào mới. Ức chế hoạt động của tubulin ảnh hưởng cấu trúc của thoi phân bào, dừng sự phân bào và kích hoạt chết theo chương trình (apoptosis). Tubulin là đích tác động của rất nhiều độc tố có nguồn gốc tự nhiên (vinca alkaloid, taxane, halichondrine B, maytansine, vedotin).

Tubulin có 2 tiểu đơn vị alpha và beta, gắn kết với nhau thành dimer (Hình 9.52). Dimer α,β-tubulin gắn với GTP sẽ polymer hóa (polymerization) thành sợi tubulin của khung tế bào. Ngược lại, khi GTP bị thủy phân về GDP, sợi tubulin sẽ tan rã (depolimerization) trở lại thành các dimer α,β-tubulin. Quá trình polymer hóa và tan rã của sợi tubulin xảy ra liên tục và sự cân bằng của quá trình này đóng vai trò quan trọng trong việc di chuyển,

thay đổi hình dạng và phân bào của tế bào. Ví dụ như quá trình polymer hóa sẽ chiếm ưu thế ở hướng tế bào muốn di chuyển tới và quá trình tan ra tubulin xảy ra ở hướng ngược lại, giúp tế bào thay đổi hình dạng và di chuyển.



Hình 9.55. Sự polymer hóa của các dimer tubulin để tạo thành sợi tubulin

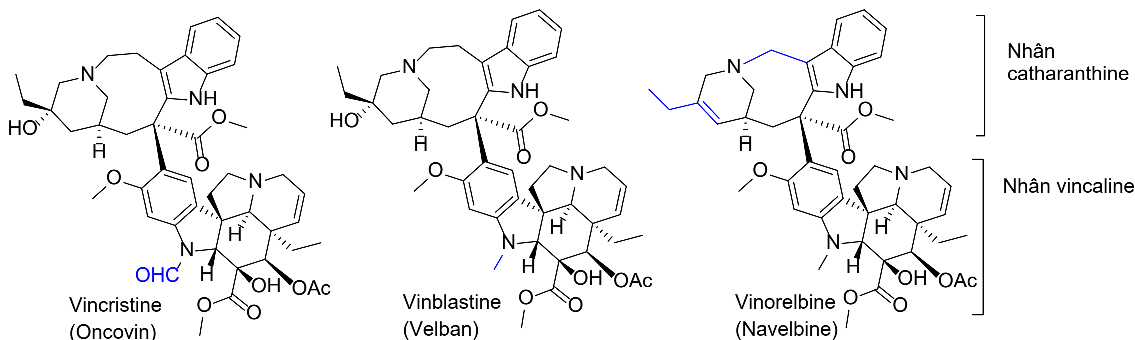
Phân loại cổ điển chia thuốc ức chế tubulin thành 2 nhóm dựa trên tác dụng của thuốc ở nồng độ cao:

- Chất ức chế sự polymer hóa của tubulin (nhóm vinca alkaloid).
- Chất ức chế sự tan rã của sợi tubulin (nhóm taxane).

Ở nồng độ thấp, các chất trên đều ức chế quá trình tan rã của sợi tubulin [8].

5.4.1. Nhóm vinca alkaloid

Các dẫn xuất vinca alkaloid có cấu trúc khá tương đồng nhưng có chỉ định khác nhau. **Vincristine** được chỉ định cho nhiều loại ung thư khác nhau như ung thư bạch cầu lympho cấp tính (oncovin trong phác đồ CHOP), ung thư Hodgkin và non-Hodgkin lymphoma. **Vinblastine** dùng kết hợp với cisplatin, bleomycin điều trị ung thư tinh hoàn di căn (phác đồ VIP = vinblastine/ifosphamide/cisplatin). **Vinorelbine** có ít độc tính trên hệ thần kinh hơn, được chỉ định cho ung thư phổi không tế bào nhỏ NSCLC hoặc ung thư vú.



Vincristine và vinblastine là hợp chất tự nhiên chiết xuất từ cây dừa cạn *(Catharanthus roseus),* được FDA chấp thuận vào năm 1961 và 1963. Nhóm này gắn với dimer α,β-tubulin với ái lực cao (vị trí gắn trên tiểu đơn vị β), ngăn quá trình polymer hóa và làm tan rã thoi phân bào. Các chất này có độc tính trên thần kinh do tubulin đóng vai trò quan trọng trong cấu trúc neuron và việc vận chuyển các bào quan hay các túi tiết dọc các sợi neuron (thường có cấu trúc sợi dài và phức tạp). Tác dụng phụ khác bao gồm giảm bạch cầu. Vincristine thường bị đề kháng bởi các bơm ngược P-gp. Vincristine và vinblastine chỉ có khác biệt nhỏ ở nhóm thế trên nhân vindoline. Sự khác biệt nhỏ này làm vincristine có độc tính tế bào mạnh hơn (và độc hơn trên hệ thần kinh). Các dẫn xuất thường được sử dụng dưới dạng muối sulfate hoặc tartrate để cải thiện độ tan.

Vincristine ít độc trên tủy xương ở liều trị liệu nên thường được kết hợp với các tác nhân hóa trị khác (ví dụ như phác đồ CHOP). Độc tính chủ yếu (dose-limiting) của vincristine là trên hệ thần kinh ngoại biên (peripheral neuropathy), gây yếu cơ, đau cơ, mệt mỏi, mất định hướng hoặc hệ thần kinh tiêu hóa gây táo bón. Vincristine có thể gây hoại tử nếu thoát ra khỏi mạch máu nên cần cẩn trọng khi tiêm truyền. Tuyệt đối không được tiêm vào dịch tủy sống (intrathecal injection) vì các trường hợp tử vong đã được báo cáo.

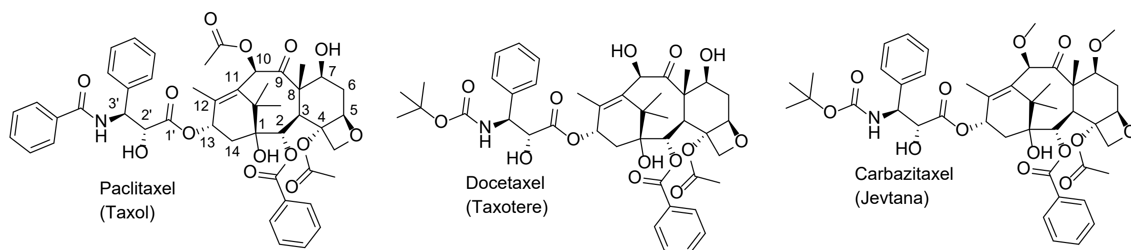
Vinblastine ít độc hơn trên hệ thần kinh, có thể kết hợp với cisplatin (phác đồ VIP) để chữa trị ung thư tinh hoàn. Tuy nhiên nó có tác dụng phụ là gây giảm bạch cầu và cần 7 ngày để phục hồi hệ miễn dịch.

Vinorelbine là dẫn xuất bán tổng hợp của vinblastine. Thay đổi chủ yếu là trên nhân catharanthine. Tương tự như vinblastine, vinorelbine có ít độc tính trên hệ thần kinh nên có thể kết hợp với cisplatin trong điều trị ung thư phổi và ung thư vú. Độc tính chủ yếu là giảm bạch cầu hạt (granulocytopenia). Cả 3 dẫn xuất vinca alkaloid đều chuyển hóa qua gan (thủy phân nhóm ester acetyl) và đào thải qua mật nên cần giảm liều ở bệnh nhân suy giảm chức năng gan.

Một số thuốc bán tổng hợp khác có cơ chế tương tự và cùng vị trí gắn với nhóm vinca alkaloid trên tubulin bao gồm eribulin (dẫn xuất bán tổng hợp của halichondrine B), maytansine.

5.4.2. Nhóm taxane

Nhóm taxane được sử dụng khá rộng rãi. Tên gọi của nhóm (taxane) bắt nguồn từ việc các thuốc là dẫn xuất diterpene chiết xuất từ cây thông họ *Taxus*. **Paclitaxel** được chỉ định cho ung thư vú di căn, ung thư phổi khi kết hợp với cisplatin, ung thư buồng trứng. **Docetaxel** được chỉ định cho ung thư vú, ung thư phổi NSCLC, ung thư tuyến tiền liệt và ung thư hệ tiêu hóa.



Paclitaxel là hợp chất tự nhiên chiết xuất từ vỏ cây thông Bắc Mỹ *(Taxus bevifolia),* được chấp thuận lần đầu bởi FDA vào năm 1993 để điều trị ung thư buồng trứng. Sau này chất được chỉ định cho nhiều loại ung thư khác như ung thư phổi (+ cisplatin) và ung thư vú (phác đồ 4AC-4P). Chất có phân tử lượng lớn, độ tan kém (thuộc nhóm IV theo phân loại Biopharmaceutics Classification system hay BCS) – kém tan, kém hấp thu) nên phải dùng dưới dạng tiêm truyền với các dung dịch trợ tan như Cremophor EL hoặc dùng dưới dạng liên kết với albumine. Nhóm thế và các trung tâm bất đối ở vị trí 2 (benzoyloxy), 4 (acetoxy), 5 (vòng oxetane), 13 (nhánh bên β-phenylisoserine) quan trọng cho việc gắn kết β-tubulin, trong khi nhóm thế ở vị trí 7 (hydroxy) hoặc 10 (acetoxy) có thể được biến đổi (acetyl hóa, thủy phân acetyl, methyl hóa) mà không ảnh hưởng nhiều đến hoạt tính [53].

Docetaxel là dẫn xuất bán tổng hợp của paclitaxel, được chấp thuận lần dầu vào năm 1996 và dùng với các chỉ định tương tự như paclitaxel. Docetaxel có nhóm *tert*-butoxycarbamate (Boc) ở vị trí 3′, và nhóm acetyl ở vị trí số 10 được thay bằng nhóm hydroxy giúp docetaxel có độ tan tốt hơn (mặc dù vẫn kém tan) và chỉ cần dùng polysorbate 80 làm chất trợ tan [25], (tránh được việc dùng Cremophor có thể gây mẫn cảm và nhiều tác dụng không mong muốn).

Nguồn nguyên liệu thông Bắc Mỹ để chiết xuất paclitaxel (taxol) khan hiếm và không bền vững do cây lớn rất chậm và việc thu hoạch vỏ làm chết cây. Trung bình 3000 cây cho ra 10 tấn vỏ để chiết xuất 1 kg taxol dùng cho 500 bệnh nhân [53]. Để tìm ra giải pháp thay thế, nhiều nghiên cứu tập trung vào việc tổng hợp và bán tổng hợp paclitaxel. Một trong số đó dẫn đến việc phát hiện docetaxel bởi nhóm nghiên cứu của Pierre Poitier (CNRS, Pháp), bán tổng hợp từ 10-deacetyl baccatin. Nguyên liệu 10-deacetylbaccatin được chiết xuất từ lá cây thanh tùng châu Âu *Taxus baccata,* 3 tấn lá có thể cho 1 kg 10-deacetylbacatin. Việc thu hoạch lá không ảnh hưởng tới việc sinh trưởng của cây nên đây là phương pháp khá bền vững. Sau này, paclitaxel cũng được bán tổng hợp từ 10-deacetylbaccatin. Docetaxel ban đầu là dẫn xuất trung gian để tổng hợp dẫn xuất taxol (Boc là nhóm bảo vệ amine khi thực hiện biến đổi các nhóm thế khác và nguyên liệu ban đầu đã có sẵn nhóm hydroxy ở vị trí số 10) tuy nhiên các thử nghiệm cho thấy hoạt tính docetaxel tốt hơn paclitaxel trên một số dòng tế bào ung thư.

Các dẫn xuất nhóm taxane bị đề kháng chủ yếu bởi cơ chế bơm ngược P-gp.

Cabazitaxel được FDA chấp thuận năm 2010 để điều trị ung thư tuyến tiền liệt di căn và kháng trị với trị liệu hormone. Cabazitaxel là dẫn xuất của docetaxel trong đó nhóm thế hydroxy ở vị trí 7 và 10 được methyl hóa. Biến đổi này làm giảm ái lực của cabazitaxel với bơm ngược P-gp nên có thể dùng khi docetaxel bị đề kháng. Hơn nữa, cabazitaxel có thể thấm qua hàng rào máu não.

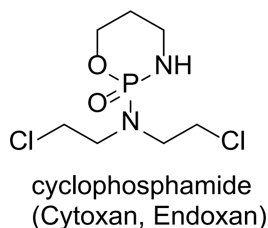
Về kiểm nghiệm, các dẫn xuất taxane được định tính bằng năng suất quay cực và phổ IR (đối chiếu phổ chuẩn), định lượng và xác định tạp bằng HPLC. Taxol có thể bị phân hủy bởi nhiệt (epimer hóa vị trí số 7), pH thấp hoặc ánh sáng nên cần được bảo quản tránh ánh sáng [54].

Lời cảm ơn

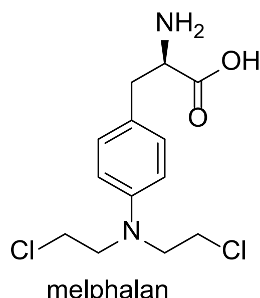
Tác giả xin cảm ơn dược sĩ Hoàng Trọng Tín góp ý về các thuốc sử dụng trong lâm sàng điều trị ung thư.

Câu hỏi tự lượng giá

1. Vì sao ung thư khó có thể điều trị khỏi hoàn toàn?
2. Nêu tên 5 đích tác động thường gặp của thuốc trị liệu trúng đích trị ung thư. Nêu 4 cơ chế chính của hóa trị liệu cổ điển.
3. Nếu các phương pháp cải tiến thuốc để vượt qua các đột biến đề kháng ở đích tác động? Cho ví dụ.
4. Vì sao các chất ức chế EGFR thế hệ 2, 3 hoặc chất ức chế KRAS có cơ chế tạo liên kết cộng hóa trị?
5. Vì sao nhóm fluoro trên 5-FU quan trọng cho hoạt tính ức chế DHFR? Giải thích vì sao capecitabin có độc tính thấp hơn 5-FU và có thể dùng bằng đường uống?
6. Giải thích vì sao cyclophosphamide là tiền dược trong khi nó chứa nhóm 2-chloroethylamine như các dẫn xuất nitrogen mustard khác (ví dụ như melphalan)?



cyclophosphamide
(Cytoxan, Endoxan)



melphalan

7. Vì sao thủy phân amide bậc 1 trên bleomycin làm mất hoạt tính độc tế bào?

8. Nhóm platin là thuốc hóa trị liệu khá phổ biến. Vì sao khi dùng cisplatin phải bù điện giải chứa Cl^- để giảm độc tính? Nếu các phối hợp thuốc để giảm độc tính của cisplatin? Vì sao oxaliplatin có thể dùng trong trường hợp kháng trị với cisplatin?

Danh mục từ viết tắt

ALL: Acute lymphoblastic leukemia, ung thư máu cấp tính dòng lympho

BCS: Biopharmaceutics Classification System, hệ thống phân loại các hoạt chất dược phẩm

BEP: Bleomycin, etoposide and platinum, phác đồ trị ung thư tinh hoàn

CML: Chronic myeloic leukemia, ung thư bạch cầu dòng tủy mạn tính

DFG: Aspatate-Phenylalanin-Glycin là một trình tự quan trọng trong việc điều hòa hoạt tính kinase của enzyme.

EGF: Epidermal growth factor, yếu tố phát triển tế bào biểu mô

EGFR: Epidermal growth factor receptor, thụ thể của yếu tố phát triển tế bào biểu mô

ER+: thụ thể estrogen

HDAC: Histone acetylase là enzyme gỡ bỏ nhóm acetyl trên lysine của histone.

HER-2: Human epidermal growth factor receptor 2, thụ thể yếu tố phát triển tế bào biểu mô 2 ở người.

KRAS: Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog, protein KRAS đóng vai trò trong điều hòa hoạt động tế bào.

MDR: Multidrug resistant, đa kháng thuốc.

NSCLC: Non-small-cell lung cancer, ung thư phổi thể không tế bào nhỏ.

P.O: Per os, từ latin, dùng đường uống.

PD-L1: Programmed death-ligand 1, protein đóng vai trò trong miễn dịch thu được hay tránh hệ miễn dịch tấn công các tế bào của cơ thể.

PIGF: Placenta growth factor, yếu tố tăng trưởng có nguồn gốc nhau thai.

PR: Thụ thể protesterone.

PSA: Polar surface area, diện tích bề mặt phân cực của phân tử.

R-CHOP: Rituxan-Cyclophosphamide/Hydrodaunorubicine/Oncovin (vincristine)/ Prednisone), phác đồ trị các loại ung thư bạch cầu.

SERD: Selective Estrogen Degraders, chất cảm ứng phá hủy thụ thể ER.

SERM: Selective Estrogen Receptor Modulators, chất ức chế chọn lọc thụ thể ER.

TGF-α: Transforming growth factor α, yếu tố tăng trưởng, cũng là ligand của EGFR.

TKI: Tyrosin kinase inhibitor, chất ức chế tyrosin kinase.

VEGFR: Vascular endothelial growth factor receptor, thụ thể của yếu tố phát triển tế bào biểu mô mạch máu.

VIP: Vinblastine/ifosphamide/cisplatin, phác đồ trị ung thư tinh hoàn.

XELOX: capecitabine (xeloda), oxaliplatin, phác đồ trị ung thư đại tràng.

Tài liệu tham khảo

1. Shurin MR. Cancer as an immune-mediated disease. ImmunoTargets Ther. 2012; 1:1-6.
2. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Zhou S, Diaz LA, Kinzler KW. Cancer Genome Landscapes. Science. 2013 Mar 29; 339(6127):1546-58.
3. Inaba H, Greaves M, Mullighan CG. Acute lymphoblastic leukaemia. Lancet 2013; 381(9881).
4. Cancer [Internet]. [cited 2020 Nov 1]. Available from: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer.
5. Cancer statistics at a glance - Canadian Cancer Society [Internet]. www.cancer.ca. [cited 2020 Nov 1]. https://www.cancer.ca:443/en/cancer-information/cancer-101/cancer-statistics-at-a-glance/?region=on.
6. Cancer Statistics - National Cancer Institute [Internet]. 2015 [cited 2020 Nov 1]. https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/statistics.
7. Global Cancer Observatory [Internet]. [cited 2020 Nov 1]. Available from: https://gco.iarc.fr/.
8. Avendaño C, Menéndez JC. Medicinal chemistry of anticancer drugs. 2015.
9. Dang A-TH, Tran V-U, Tran T-T, Thi Pham H-A, Le D-T, Nguyen L, et al. Actionable Mutation Profiles of Non-Small Cell Lung Cancer patients from Vietnamese population. Sci Rep. 2020; 10(1):2707.
10. Klein S, Levitzki A. Signal Transduction Therapy for Cancer - Whither Now? Curr Signal Transduct Ther. 2006; 1(1):1-12.
11. McSkimming DI, Rasheed K, Kannan N. Classifying kinase conformations using a machine learning approach. BMC Bioinformatics. 2017; 18(1):86.

12. Rewcastle GW, Denny WA, Bridges AJ, Zhou H, Cody DR, McMichael A, et al. Tyrosine kinase inhibitors. 5. Synthesis and structure-activity relationships for 4-[(phenylmethyl)amino]- and 4-(phenylamino)quinazolines as potent adenosine 5'-triphosphate binding site inhibitors of the tyrosine kinase domain of the epidermal growth factor receptor. J Med Chem. 1995; 38(18):3482-3487.

13. Denny WA, Rewcastle GW, Bridges AJ, Fry DW, Kraker AJ. Structure-Activity Relationships for 4-Anilinoquinazolines as Potent Inhibitors at the Atp Binding Site of the Epidermal Growth Factor Receptor in Vitro. Clin Exp Pharmacol Physiol. 1996; 23(5):424-427.

14. Barker AJ, Gibson KH, Grundy W, Godfrey AA, Barlow JJ, Healy MP, et al. Studies leading to the identification of ZD1839 (iressa™): an orally active, selective epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor targeted to the treatment of cancer. Bioorg Med Chem Lett. 2001; 11(14):1911-1914.

15. Moyer JD, Barbacci EG, Iwata KK, Arnold L, Boman B, Cunningham A, et al. Induction of Apoptosis and Cell Cycle Arrest by CP-358,774, an Inhibitor of Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase. Cancer Res. 1997; 57(21):4838-4848.

16. Han W, Du Y. Recent Development of the Second and Third Generation Irreversible Epidermal Growth Factor Receptor Inhibitors. Chem Biodivers. 2017; 14(7):e1600372.

17. Bollinger MK, Agnew AS, Mascara GP. Osimertinib: A third-generation tyrosine kinase inhibitor for treatment of epidermal growth factor receptor-mutated non-small cell lung cancer with the acquired Thr790Met mutation: J Oncol Pharm Pract. 2018; 24(5):379-388.

18. Ward RA, Anderton MJ, Ashton S, Bethel PA, Box M, Butterworth S, et al. Structure- and Reactivity-Based Development of Covalent Inhibitors of the Activating and Gatekeeper Mutant Forms of the Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR). J Med Chem. 2013; 56(17):7025-7048.

19. Finlay MRV, Anderton M, Ashton S, Ballard P, Bethel PA, Box MR, et al. Discovery of a Potent and Selective EGFR Inhibitor (AZD9291) of Both Sensitizing and T790M Resistance Mutations That Spares the Wild Type Form of the Receptor. J Med Chem. 2014; 57(20):8249-8267.

20. Jia Y, Yun C-H, Park E, Ercan D, Manuia M, Juarez J, et al. Overcoming EGFR(T790M) and EGFR(C797S) resistance with mutant-selective allosteric inhibitors. Nature. 2016; 534(7605):129-132.

21. Apte RS, Chen DS, Ferrara N. VEGF in Signaling and Disease: Beyond Discovery and Development. Cell. 2019; 176(6):1248-1264.

22. Zirlik K, Duyster J. Anti-Angiogenics: Current Situation and Future Perspectives. Oncol Res Treat. 2018; 41(4):166-171.

23. Wilhelm S, Carter C, Lynch M, Lowinger T, Dumas J, Smith RA, et al. Discovery and development of sorafenib: a multikinase inhibitor for treating cancer. Nat Rev Drug Discov. 2006; 5(10):835-844.

24. Lowinger T, Riedl B, Dumas J, Smith R. Design and Discovery of Small Molecules Targeting Raf-1 Kinase. Curr Pharm Des. 2002; 8(25):2269-2278.

25. Lemk TL, Williams D, Roche VF, ZITO SW. Foye's Principles of Medicinal Chemistry. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2013.

26. Sun CL, Christensen JG, McMahon G. Discovery and Development of Sunitinib (SU11248): A Multitarget Tyrosine Kinase Inhibitor of Tumor Growth, Survival, and Angiogenesis. In: Li R, Stafford JA, editors. Kinase Inhibitor Drugs. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc.; 2009. pp.1-39.

27. Sun L, Liang C, Shirazian S, Zhou Y, Miller T, Cui J, et al. Discovery of 5-[5-Fluoro-2-oxo-1,2- dihydroindol-(3Z)-ylidenemethyl]-2,4- dimethyl-1H-pyrrole-3-carboxylic Acid (2-Diethylaminoethyl)amide, a Novel Tyrosine Kinase Inhibitor Targeting Vascular Endothelial and Platelet-Derived Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase. J Med Chem. 2003; 46(7):1116-1119.

28. Sattler M, Griffin JD. Mechanisms of Transformation by the BCR/ABL Oncogene. Int J Hematol. 2001; 73(3):278-291.

29. Pinilla-Ibarz J, Emole J, Talabi T. Update on the management of Philadelphia chromosome positive chronic myelogenous leukemia: role of nilotinib. Biol Targets Ther. 2016; p.23.

30. Mukherjee S. The emperor of all maladies: a biography of cancer. 1st Scribner trade paperback ed. New York: Scribner; 2011. p.573.

31. Capdeville R, Buchdunger E, Zimmermann J, Matter A. Glivec (STI571, imatinib), a rationally developed, targeted anticancer drug. Nat Rev Drug Discov. 2002; 1(7):493-502.

32. Rossari F, Minutolo F, Orciuolo E. Past, present, and future of Bcr-Abl inhibitors: from chemical development to clinical efficacy. J Hematol OncolJ Hematol Oncol. 2018; 11(1):84.

33. Zimmermann J, Buchdunger E, Mett H, Meyer T, Lydon NB. Potent and selective inhibitors of the Abl-kinase: phenylamino-pyrimidine (PAP) derivatives. Bioorg Med Chem Lett. 1997; 7(2):187-192.

34. Zimmermann J, Buchdunger E, Mett H, Meyer T, Lydon NB, Traxler P. Phenylamino-pyrimidine (PAP)-derivatives: a new class of potent and highly selective PDGF-

receptor autophosphorylation inhibitors. Bioorg Med Chem Lett. 1996; 6(11):1221-1226.

35. Patrick GL. An introduction to medicinal chemistry. Fifth edition. Oxford: Oxford University Press; 2013. p.789.

36. Du X, Shao Y, Qin H-F, Tai Y-H, Gao H-J. ALK-rearrangement in non-small-cell lung cancer (NSCLC). Thorac Cancer. 2018; 9(4):423-430.

37. Remon J, Pignataro D, Novello S, Passiglia F. Current treatment and future challenges in ROS1- and ALK-rearranged advanced non-small cell lung cancer. Cancer Treat Rev. 2021; 95:102178.

38. Uchibori K, Inase N, Araki M, Kamada M, Sato S, Okuno Y, et al. Brigatinib combined with anti-EGFR antibody overcomes osimertinib resistance in EGFR-mutated non-small-cell lung cancer. Nat Commun. 2017; 8(1):14768.

39. Johnson TW, Richardson PF, Bailey S, Brooun A, Burke BJ, Collins MR, et al. Discovery of (10R)-7-Amino-12-fluoro-2,10,16-trimethyl-15-oxo-10,15,16,17-tetrahydro-2H-8,4-(metheno)pyrazolo[4,3-h][2,5,11]-benzoxadiazacyclotetradecine-3-carbonitrile (PF-06463922), a Macrocyclic Inhibitor of Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK) and c-ros Oncogene 1 (ROS1) with Preclinical Brain Exposure and Broad-Spectrum Potency against ALK-Resistant Mutations. J Med Chem. 2014; 57(11):4720-4744.

40. Janes MR, Zhang J, Li L-S, Hansen R, Peters U, Guo X, et al. Targeting KRAS Mutant Cancers with a Covalent G12C-Specific Inhibitor. Cell. 2018; 172(3):578-589.e17.

41. Portman N, Alexandrou S, Carson E, Wang S, Lim E, Caldon CE. Overcoming CDK4/6 inhibitor resistance in ER-positive breast cancer. Endocr Relat Cancer. 2019; 26(1):R15-30.

42. Chong Q-Y, Kok Z-H, Bui N-L-C, Xiang X, Wong AL-A, Yong W-P, et al. A unique CDK4/6 inhibitor: Current and future therapeutic strategies of abemaciclib. Pharmacol Res. 2020; 156:104686.

43. Furet P, Guagnano V, Fairhurst RA, Imbach-Weese P, Bruce I, Knapp M, et al. Discovery of NVP-BYL719 a potent and selective phosphatidylinositol-3 kinase alpha inhibitor selected for clinical evaluation. Bioorg Med Chem Lett. 2013; 23(13):3741-3748.

44. André F, Ciruelos E, Rubovszky G, Campone M, Loibl S, Rugo HS, et al. Alpelisib for PIK3CA-Mutated, Hormone Receptor–Positive Advanced Breast Cancer. N Engl J Med. 2019; 380(20):1929-1940.

45. James A, Blumenstein L, Glaenzel U, Jin Y, Demailly A, Jakab A, et al. Absorption, distribution, metabolism, and excretion of [14C]BYL719 (alpelisib) in healthy male volunteers. Cancer Chemother Pharmacol. 2015; 76(4):751-760.

46. Figlin RA. Mechanisms of Disease: survival benefit of temsirolimus validates a role for mTOR in the management of advanced RCC. Nat Clin Pract Oncol. 2008; 5(10):601-609.

47. Groll M, Berkers CR, Ploegh HL, Ovaa H. Crystal Structure of the Boronic Acid-Based Proteasome Inhibitor Bortezomib in Complex with the Yeast 20S Proteasome. Structure. 2006; 14(3):451-456.

48. Ascenzi P, Bocedi A, Marino M. Structure-function relationship of estrogen receptor α and β: Impact on human health. Mol Aspects Med.; 27(4):299-402.

49. Burke TG, Mi ZH. Preferential Binding of the Carboxylate Form of Camptothecin by Human Serum Albumin. Anal Biochem. 1993; 212(1):285-287.

50. Burke TG, Mi Z. The structural basis of camptothecin interactions with human serum albumin: impact on drug stability. J Med Chem. 1994; 37(1):40-46.

51. Macka M, Borák J, Seménková L, Kiss F. Decomposition of Cisplatin in Aqueous Solutions Containing Chlorides by Ultrasonic Energy and Light. J Pharm Sci. 1994; 83(6):815-818.

52. Brunton LL, Knollmann BC, Hilal-Dandan R. Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics. New York, N.Y.: McGraw-Hill Education LLC.; 2018.

53. Żwawiak J, Zaprutko L. A brief history of taxol. J Med Sci. 2014; 1:47.

54. Mohammadi A, Esmaeili F, Dinarvand R, Atyabi F, Walker RB. Development and Validation of a Stability-Indicating Method for the Quantitation of Paclitaxel in Pharmaceutical Dosage Forms. J Chromatogr Sci. 2009; 47(7):599-604.

55. Harris PA, Boloor A, Cheung M, Kumar R, Crosby RM, Davis-Ward RG, et al. Discovery of 5-[[4-[(2,3-Dimethyl-2H-indazol-6-yl)methylamino]-2-pyrimidinyl] amino]-2-methyl-benzenesulfonamide (Pazopanib), a Novel and Potent Vascular Endothelial Growth Factor Receptor Inhibitor. J Med Chem. 2008;51:4632–40

56. Chabner BA. Barnett Rosenberg: In Memoriam (1924–2009). Cancer Res. 2010;70:428–9.

Chương 10

THUỐC SÁT KHUẨN

Khưu Mỹ Lệ

Các hoạt chất được đề cập

Ethanol
Isopropyl alcohol

Các hợp chất phenol
Phenol
Thymol
Eugenol
Resorcinol
Hexylresorcinol
Hexachlorophene

Tác nhân oxy hóa
Kali permanganate
Hydrogen peroxide
Carbamide peroxide

Hợp chất chứa halogen
Iodine
Povidone - iodine
Halazone
Chloramin T

Chất diện hoạt
Benzalkonium chloride
Methylbenzethonium chloride
Benzethonium chloride
Cetylpyridinium chloride
Laurylpyridinium chloride
Natri dodecylbenzenesulfonate
Natri oxychlorosene

Thuốc nhuộm
Tím gentian
Base fuchsin
Xanh methylene

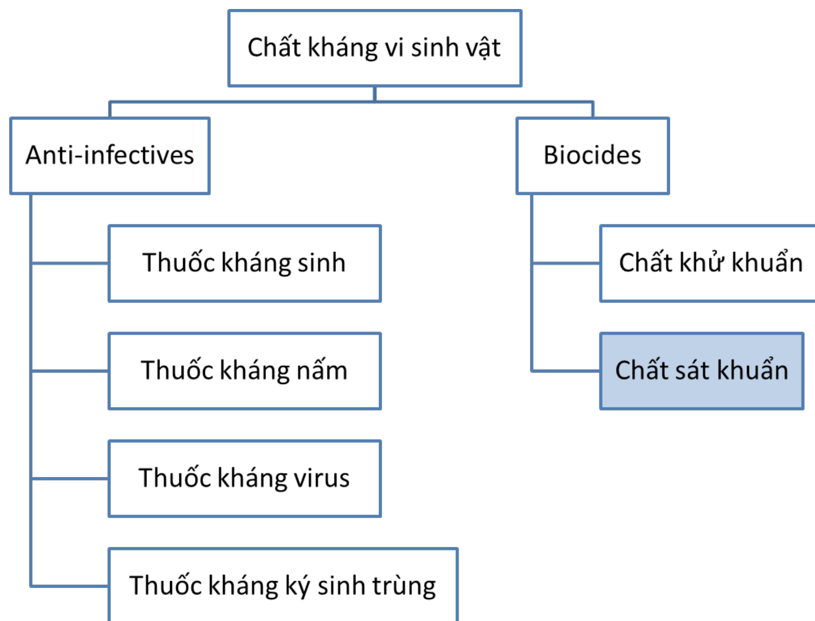
Hợp chất kim loại nặng
Thiomersal
Mercurochrome
Bạc nitrate
Bạc sulfadiazine

Hợp chất nhóm diarylurea, amidine và biguanide
Triclocarban
Propamidine
Dibromopropamidine
Chlorhexidine gluconate

1. GIỚI THIỆU

Nhiều loại vi sinh vật (vi khuẩn, virus, nấm, ký sinh trùng,…) là mầm mống gây bệnh cho con người và động, thực vật. Để bảo vệ sức khỏe con người và vật nuôi, cây trồng, nhiều phương pháp *vật lý* và *hóa học* đã được sử dụng để đẩy lùi các loại vi sinh vật gây bệnh.

Các phương pháp vật lý bao gồm sử dụng nhiệt, chiếu xạ, vi lọc,… Các chất hóa học kháng vi sinh vật (antimicrobials) thì rất đa dạng, được phân loại dựa trên tác dụng trên vi sinh vật và mục đích sử dụng (Hình 10.1) [1].



Hình 10.1. Phân loại các chất kháng vi sinh vật

- **Các tác nhân đặc hiệu (anti-infectives):** chia thành thuốc kháng sinh, thuốc kháng nấm, thuốc kháng virus, thuốc kháng ký sinh trùng. Các chất này có tác dụng đặc hiệu trên một loại vi sinh vật nhất định, ít độc tính, có thể dùng qua đường toàn thân (systemic).

- **Các tác nhân không đặc hiệu (biocides):** có thể tiêu diệt hoặc ngăn chặn nhiều tác nhân gây bệnh như vi khuẩn, nấm, virus và ký sinh trùng. Dựa vào vị trí và mục đích sử dụng, các tác nhân không đặc hiệu có thể được gọi là chất khử khuẩn (disinfectants) hoặc chất sát khuẩn (antiseptics) [2].

  + **Chất khử khuẩn:** là tác nhân tiêu diệt, loại bỏ hoặc bất hoạt hầu hết các vi sinh vật trên các bề mặt không phải mô sống như bề mặt dụng cụ, vật liệu trơ hoặc trong chất lỏng, trong môi trường. Các chất khử khuẩn làm giảm đáng kể số lượng nhưng không loại bỏ hoàn toàn các vi sinh vật (khác với tiệt trùng - sterilization). Chất khử khuẩn lý tưởng cần có phổ rộng, tiêu diệt nhanh tất cả vi sinh vật gây bệnh, xâm nhập tốt vào vi khuẩn; tương hợp với các hợp chất hữu cơ (đặc biệt là xà phòng), không bị bất hoạt bởi mô sống, không ăn mòn và không mùi hoặc mùi đặc trưng.

  + **Chất sát khuẩn:** là tác nhân tiêu diệt hoặc ức chế sự phát triển của vi sinh vật trên mô sống (thường được dùng ngoài da, niêm mạc). Phần lớn chất sát khuẩn không tác dụng trên bào tử.

Năm 1867, Joseph Lister đưa ra các nguyên tắc sát khuẩn trong phẫu thuật và chấn thương. Ông dùng phenol làm dung dịch rửa tay, phun xịt vào vết mổ và băng bó vết

thương. Các biện pháp này đã làm giảm tỷ lệ nhiễm trùng sau phẫu thuật. Từ đó, các chất sát khuẩn lần lượt được phát minh.

2. NGUYÊN TẮC HOẠT ĐỘNG CỦA CHẤT SÁT KHUẨN

2.1. Tiêu chuẩn của một chất sát khuẩn lý tưởng

- Phổ tác dụng rộng (trên vi khuẩn, nấm, virus).
- Tác dụng nhanh và duy trì được hoạt tính.
- Dễ dàng xâm nhập vào vết thương.
- Không gây kích ứng hoặc cản trở quá trình làm lành vết thương.
- Độc tính tại chỗ và toàn thân thấp để có thể dùng trực tiếp trên da hoặc vết thương.

Thực tế, không có chất sát khuẩn nào đáp ứng được tất cả các tiêu chí này [3].

2.2. Độc tính chọn lọc

Yêu cầu về độc tính chọn lọc tăng lên từ chất khử khuẩn, chất sát khuẩn đến chất có tác dụng toàn thân. Đối với chất sát khuẩn, mối quan tâm chính là chỉ số trị liệu. Độc tính thường gặp là kích ứng tại chỗ và làm chậm quá trình lành vết thương. Phản ứng quá mẫn và độc tính toàn thân có thể xảy ra do sự hấp thu thuốc qua da và niêm mạc [1].

2.3. Cơ chế tác dụng

Tác nhân kháng khuẩn có mục tiêu tác động khác nhau. Một số chất có nhiều mục tiêu tác động hoặc cơ chế tác dụng chưa được biết rõ. Xem chi tiết trong từng nhóm hoạt chất.

2.4. Cơ chế kháng thuốc của vi khuẩn

Màng ngoài của vi khuẩn gram âm được cấu tạo bởi lipopolysaccharide, protein và lipid. Đó là rào cản đối với nhiều tác nhân hóa học (amine bậc bốn, thuốc nhuộm triphenylmethane). Ngược lại, màng tế bào của vi khuẩn gram dương, ngoại trừ bào tử và mycobacteria, có khả năng thấm cao hơn đối với hầu hết các tác nhân. Hydrogen peroxide và chlorine có thể không qua được lớp vỏ ngoài của bào tử. Tế bào vi khuẩn cũng có cơ chế bơm ngược đẩy ammonium bậc 4, thuốc nhuộm và hợp chất thủy ngân ra khỏi tế bào [1].

3. CÁC CHẤT SÁT KHUẨN

3.1. Alcohol

Alcohol đã được dùng làm chất sát khuẩn và chất khử khuẩn từ lâu, phổ biến nhất là ethanol và isopropyl alcohol. Ở nồng độ thấp, alcohol có trong các chế phẩm với vai trò như chất bảo quản và dung môi.

Cơ chế tác dụng

Alcohol có hoạt tính chống lại vi sinh vật nhờ khả năng làm biến tính các protein và cacbohydrate quan trọng của vi sinh vật. Nhóm -OH của alcohol có khả năng tạo liên kết hydro với protein và làm xáo trộn cấu trúc của protein, đặc biệt là cấu trúc bậc III. Alcohol còn phá vỡ cấu trúc lipid trong thành và màng tế bào vi khuẩn.

Liên quan cấu trúc tác dụng

- Hoạt tính kháng khuẩn của alcohol (trong môi trường nuôi cấy *Staphylococcus aureus*) tăng theo khối lượng phân tử cho đến khi mạch có 8 nguyên tử carbon (octanol). Isopropyl alcohol có hoạt tính mạnh hơn ethanol trên vi khuẩn hoạt động nhưng cả hai đều không có tác dụng chống lại bào tử.

- Sự phân nhánh của mạch carbon làm giảm hiệu quả kháng khuẩn, lực Van der Waals yếu hơn do sự phân nhánh làm giảm khả năng xuyên qua màng tế bào vi khuẩn. Hoạt tính của rượu đồng phân giảm theo thứ tự bậc 1 > bậc 2 > bậc 3. Tuy nhiên, trong thực tế isopropyl alcohol được dùng thay cho *n*-propyl alcohol vì giá rẻ hơn [1].

Ưu - nhược điểm

- Ưu điểm: Alcohol có phổ kháng vi sinh vật rộng; dễ bay hơi nên để lại bề mặt khô ráo sau khi lau; alcohol bền, ít mùi, không độc, rẻ tiền; ít tương kỵ; alcohol còn là dung môi tốt.

- Nhược điểm: Alcohol không có khả năng diệt bào tử, các dung dịch alcohol trong bào chế dược phẩm cần được tiêu diệt bào tử bằng các phương pháp như chiếu xạ hay vi lọc. Alcohol nồng độ cao dễ gây cháy nên phải được bảo quản ở những nơi thoáng mát, thông gió tốt, cấm lửa; sử dụng trên da thường xuyên gây khô da, trên vết thương gây kích ứng; một số bề mặt có thể bị hư hại khi lau bằng dung dịch alcohol.

3.1.1. Ethanol

3.1.1.1. Tính chất lý hóa

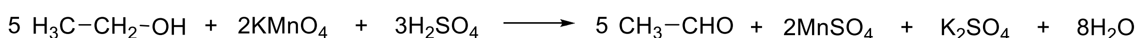
Ethanol hay còn gọi là ethyl alcohol (CH_3CH_2OH) là chất trong suốt, không màu, dễ bay hơi có vị nóng và mùi dễ chịu. Tan trong nước ở tất cả tỷ lệ, tan trong methylene chloride và hầu hết các dung môi hữu cơ. Nhiệt độ sôi là 78 °C. Ethanol dễ cháy, tạo nên ngọn lửa màu xanh dương, không khói. Ethanol có nồng độ khoảng 96% (theo thể tích) tạo thành hỗn hợp đẳng phí với nước ở 78.2 °C.

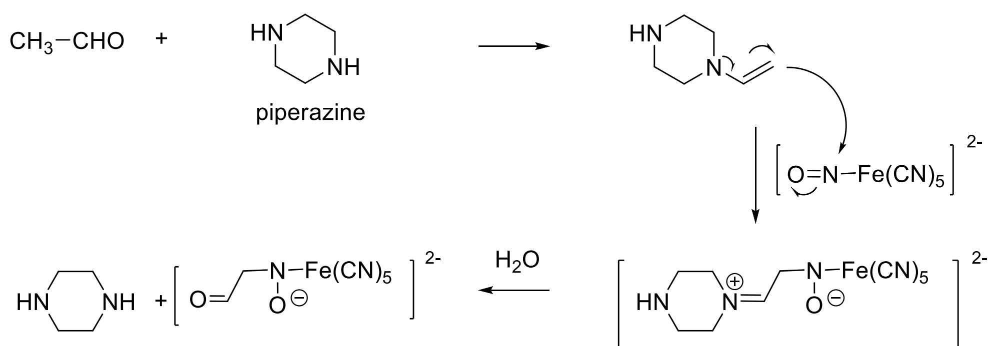
3.1.1.2. Kiểm nghiệm

- Định tính:

+ Đun nóng hợp chất với kali permanganate và sulfuric acid. Hơi bay lên được cho đi qua tờ giấy lọc đã thấm dung dịch natri nitroprusside - $Na_2[Fe(CN)_5(NO)]$ và piperazine. Sau vài phút, một màu xanh dương xuất hiện và nhạt dần sau 10 - 15 phút.

Giải thích: ethanol bị oxy hóa bởi $KMnO_4$ tạo acetaldehyde. Acetaldehyde dễ bay hơi nên phản ứng với piperazine trong giấy lọc tạo enamine. Enamine tạo thành phản ứng với natri nitroprusside tạo sản phẩm có màu xanh (Hình 10.2).





Hình 10.2. Cơ chế phản ứng định tính ethanol bằng $KMnO_4$ và natri nitroprusside

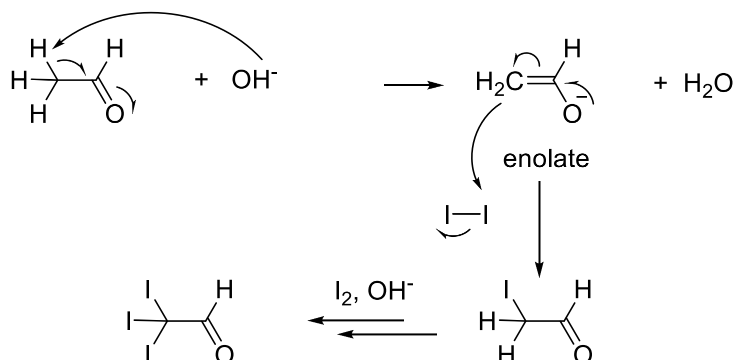
+ Phản ứng với 3,5-dinitrobenzoyl chloride tạo ra ethyl 3,5-dinitrobenzoate có nhiệt độ nóng chảy ở 90 - 94 °C.

+ Phản ứng tạo iodoform: ethanol phản ứng với iodine trong môi trường kiềm tạo iodoform (triiodomethane) kết tủa màu vàng. Phản ứng iodoform đặc trưng cho các alcohol có nhóm -OH kế cận nhóm $-CH_3$ (CH_3-CHOH-R). Phản ứng xảy ra lần lượt theo các bước: oxy hóa, iodine hóa, thủy phân (Hình 10.3) [4].

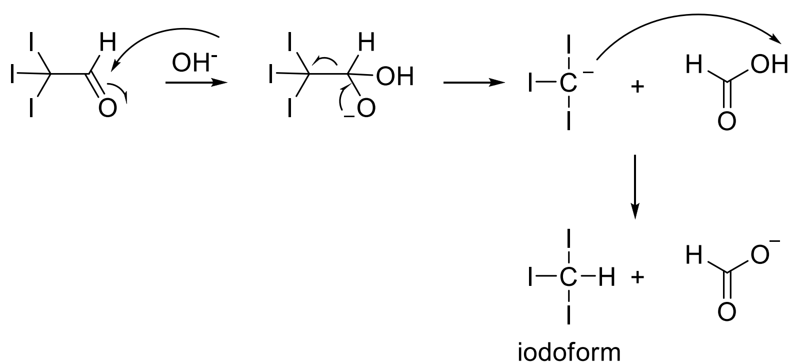
Bước 1: oxy hóa ethanol thành acetaldehyde



Bước 2: iodine hóa (3 lần)



Bước 3: thủy phân



Hình 10.3. Sơ đồ phản ứng iodoform của ethanol

+ Phản ứng với acetic acid với xúc tác acid, tạo thành ethyl acetate có mùi đặc trưng.

+ Xác định tỷ trọng tương đối.

+ Đo phổ IR so với phổ chuẩn.

- *Thử tinh khiết:*

+ Cảm quan: Chất lỏng trong suốt, không màu khi so sánh với nước cất.

+ Giới hạn acid - kiềm.

+ Đo độ hấp thụ.

Ethanol có thể bị lẫn tạp dầu, aldehyde, furfural, acetone, methanol, alcohol chuỗi dài, isopropanol, benzene, cyclohexane,…

+ Thử tạp chất dễ bay hơi (methanol, acetaldehyde và acetal, benzene) bằng phương pháp sắc ký khí [5].

+ Cắn còn lại sau khi bay hơi.

- Định lượng:

Định lượng ethanol trong các chế phẩm lỏng bằng phương pháp chưng cất.

3.1.1.3. Ứng dụng

Các dung dịch ethanol nồng độ quá cao (> 90%) nhanh chóng làm đông tụ protein ở phía ngoài thành tế bào vi khuẩn và ngăn cản alcohol thấm sâu vào bên trong tế bào. Do đó hiệu quả kháng khuẩn cao nhất nằm trong khoảng nồng độ 60 - 90% (tốt nhất là 70 - 80%)[1,7].

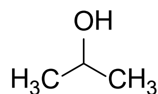
Thành phần của dung dịch sát khuẩn tay của WHO (Guidelines on Hand Hygiene in Health Care: First Global Patient Safety Challenge Clean Care Is Safer Care, 2009): Ethanol 80% *v/v* (phần trăm theo thể tích), glycerol 1.45% *v/v*, hydrogen peroxide (H_2O_2) 0.125% *v/v*, nước cất vừa đủ.

Một yếu tố quan trọng ảnh hưởng đến khả năng diệt vi sinh vật là thời gian tiếp xúc (Bảng 10.1). Các dạng bào chế làm giảm tốc độ bay hơi của ethanol (dạng gel) giúp làm tăng thời gian tiếp xúc trên da và làm tăng hiệu quả sát khuẩn [6].

Bảng 10.1. Thời gian tiếp xúc cần thiết của ethanol trên vi sinh vật để đạt hiệu quả sát khuẩn

Vi sinh vật	Nồng độ ethanol	Thời gian tiếp xúc
Vi khuẩn	78%	30 giây
	85%	15 giây
Mycobacterium tuberculosis	70%	5 phút
Nấm (*Candida albicans*)	85%	30 giây

3.1.2. Isopropyl alcohol



Hình 10.4. Isopropyl alcohol

3.1.2.1. Tính chất lý hóa

Isopropyl alcohol (còn gọi là propan-2-ol) là chất lỏng trong suốt, không màu, dễ bay hơi với mùi đặc trưng, vị hơi đắng, cháy lưỡi; cháy với ngọn lửa chói sáng nhẹ, không khói. Isopropyl alcohol tan trong nước, ethanol, toluene, chloroform và ether dầu hỏa. Nhiệt độ sôi từ 81 - 83 °C.

3.1.2.2. Kiểm nghiệm

- Định tính:

+ Phản ứng iodoform (tương tự ethanol do có cấu trúc CH_3-CHOH-).

+ Ester hóa với 3,5-dinitrobenzoic acid anhydride tạo thành isopropyl 3,5-dinitrobenzoate được xác định bởi nhiệt độ nóng chảy từ 118 - 122 ^oC.

+ Phản ứng với dimethylaminobenzaldehyde trong sulfuric acid tạo thành chất màu đỏ tím tại bề mặt phân cách. Sau 2 - 5 phút, lớp acid chuyển sang màu tím.

+ Xác định tỷ trọng tương đối.

+ Đo phổ IR so với phổ chuẩn.

- Thử tinh khiết:

+ Giới hạn acid - kiềm.

+ Độ hấp thụ UV ở 230 nm, 250 nm, 270 nm, 290 nm và 310 nm.

Tạp chất: acetone, benzene, diisopropyl ether, diethylether, methanol, propan-1-ol.

+ Benzene và chất liên quan: Phát hiện bằng sắc ký khí.

+ Peroxide: Phát hiện bằng kali iodide và dung dịch hồ tinh bột.

+ Các chất không bay hơi khác: Cắn còn lại sau khi bay hơi.

3.1.2.3. Ứng dụng

Isopropyl alcohol diệt khuẩn nhanh chóng ở nồng độ từ 50% đến 95%. Nồng độ 40% có hiệu quả sát khuẩn tương đương với dung dịch 60% ethanol [8].

Thành phần của dung dịch sát khuẩn tay của WHO: isopropyl alcohol 75% *v/v*, glycerol 1.45% *v/v*, hydrogen peroxide 0.125% *v/v*, nước cất vừa đủ.

Bảng 10.2. Thời gian tiếp xúc cần thiết của isopropyl alcohol trên vi sinh vật để đạt hiệu quả sát khuẩn [6]

Vi sinh vật	Nồng độ isopropyl alcohol	Thời gian tiếp xúc
Vi khuẩn	70%	15 giây
Mycobacterium tuberculosis	60%	5 phút
Nấm (*Candida albicans*)	50%	5 phút

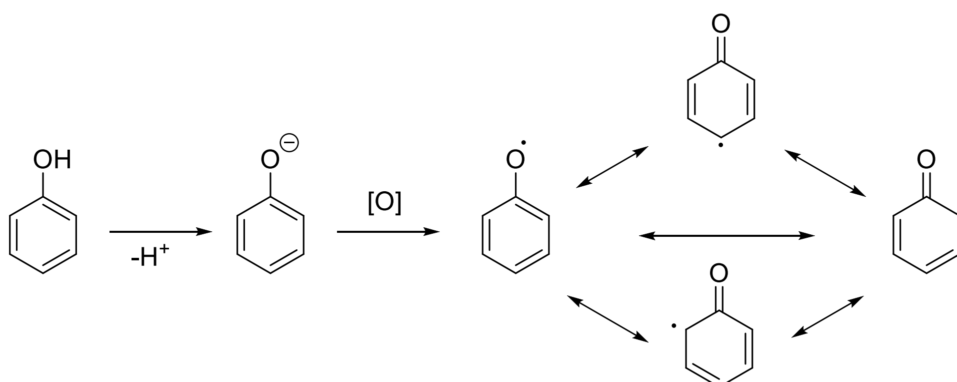
Isopropyl alcohol là chất thay thế thích hợp cho ethanol trong hầu hết các trường hợp (chất sát khuẩn da, khử khuẩn dụng cụ phẫu thuật và được tẩm trên miếng gạc để sát khuẩn da trước khi tiêm, chất bảo quản,…).

Isopropyl alcohol có khả năng ức chế thần kinh mạnh gấp 2 - 3 lần ethanol nên có thể gây ngộ độc khi nuốt phải.

3.2. Các hợp chất phenol

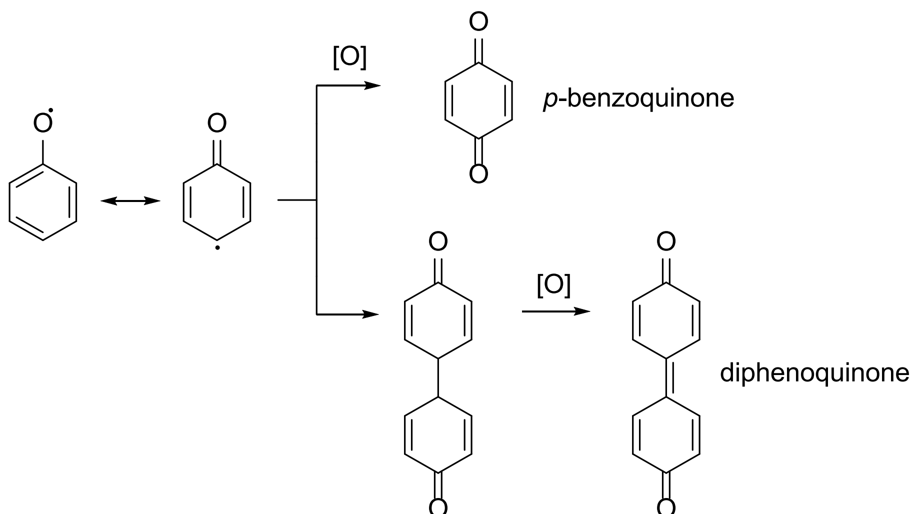
Tính chất lý hóa

Tính chất đặc trưng của phenol và dẫn chất là dễ bị oxy hóa. Sự oxy hóa xảy ra theo con đường gốc tự do. Gốc tự do phenoxy được ổn định nhờ sự liên hợp trong phân tử (Hình 10.5). Điều này cũng giải thích cho việc xảy ra phản ứng thứ cấp tại vị trí *ortho* hay *para* của -OH phenol. Độ bền của gốc tự do phenoxy phụ thuộc vào vị trí và đặc điểm (rút/đẩy điện tử; hiệu ứng không gian) của các nhóm thế trên vòng phenyl [4].



Hình 10.5. Sự tạo thành gốc tự do phenoxy

Tùy vào độ bền của gốc tự do phenoxy và tác nhân oxy hóa, sản phẩm oxy hóa của phenol có thể là diphenoquinone, *p*-benzoquinone (Hình 10.6) và các đồng phân *ortho* tương ứng [4].



Hình 10.6. Sản phẩm oxy hóa phenol

Cơ chế tác dụng

Phenol và dẫn chất diệt khuẩn bằng cách làm biến tính protein vi khuẩn và ly giải màng tế bào vi khuẩn. Khả năng biến tính protein có thể xảy ra ở nồng độ thấp, do nhóm -OH tạo liên kết hydro với protein làm xáo trộn cấu trúc không gian. Các hợp chất phenol không diệt bào tử [1,2].

Liên quan cấu trúc - tác động [1]

- Dẫn chất monophenol thế, bisphenol có tác dụng diệt khuẩn mạnh hơn phenol.

- Nhóm hydroxyl tự do cần thiết cho hoạt tính.

- Thế alkyl, aryl và halogen (đặc biệt ở vị trí *para*) làm tăng hiệu lực diệt khuẩn do tăng tính thân dầu và giảm sức căng bề mặt.

- Nhóm rút điện tử như halogen tăng tính acid của phenol.

- Các nhóm alkyl mạch thẳng có khả năng diệt khuẩn mạnh hơn nhóm phân nhánh.

- Tăng trọng lượng phân tử của chuỗi alkyl thường tăng hoạt tính và giảm độc tính. Tuy nhiên chuỗi alkyl nhiều hơn 6 carbon có thể làm giảm hoạt tính do quá kém tan trong nước.

- Nitrate hóa tăng hoạt tính đồng thời tăng độc tính.

3.2.1. Phenol (acid carbolic, hydroxybenzene)

3.2.1.1. Tính chất lý hóa

Phenol là chất kết tinh không màu đến hồng nhạt, màu đậm hơn khi tiếp xúc với không khí do hình thành quinone và pyrocatechol. Dễ bay hơi với "mùi thuốc" đặc trưng, rất tan trong ethanol, tan trong nước, salol (phenyl salicylate). Dạng muối tan trong kiềm.

Phenol là một acid yếu với pK_a ~10. Nhiệt độ sôi khoảng 180 - 182 ^oC. Nhiệt độ đông đặc khoảng 41 ^oC. Vết tạp của nước làm hạ nhiệt độ đông đặc. Nếu lượng nước > 6%, hoạt chất ở dạng lỏng tại nhiệt độ phòng.

Cực đại hấp thu của phenol ở 270 nm. Trong môi trường kiềm, cực đại hấp thụ của hoạt chất ở 286 nm [4].

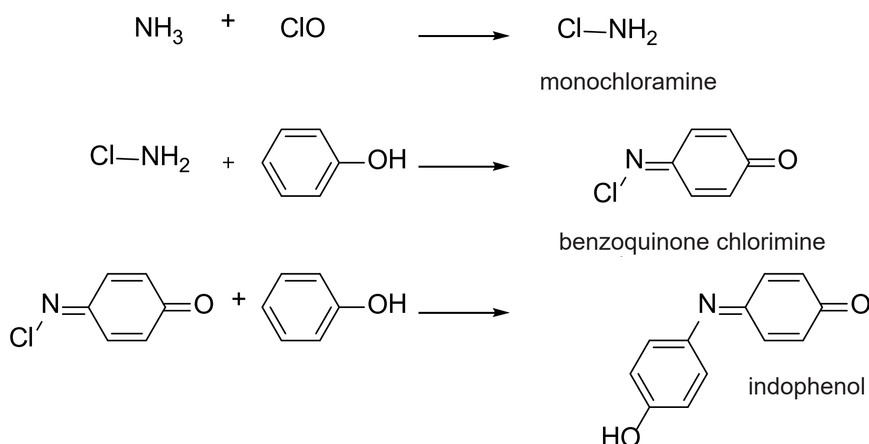
3.2.1.2. Kiểm nghiệm

- Định tính:

+ Với sắt (III) chloride, tạo thành phức chất màu tím.

+ Với nước bromine (Br_2), dung dịch phenol trong nước hình thành 2,4,6-tribromophenol (tủa trắng/trắng hơi vàng).

+ Phản ứng Berthelot: phenol phản ứng với ammonia và natri hypochlorite xuất hiện màu xanh. Đầu tiên, ammonia phản ứng với hypochlorite tạo monochloramine. Chất này phản ứng với phenol tạo thành benzoquinone chlorimine; benzoquinone chlorimine phản ứng với một phân tử phenol thứ hai tạo thành indophenol (Hình 10.7).



Hình 10.7. Cơ chế phản ứng Berthelot

- Định lượng:

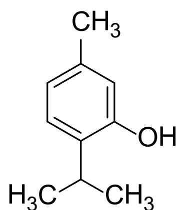
Định lượng bằng nước bromine có sự hiện diện của hydrochloric acid. Lượng Br_2 còn dư sau phản ứng với phenol được cho phản ứng với kali iodide, giải phóng iodine (I_2). Lượng I_2 tạo thành được chuẩn độ bằng natri thiosulfate với chỉ thị hồ tinh bột [5].

3.2.1.3. Ứng dụng trị liệu

Phenol lỏng chứa phenol từ 77 - 81.5% trong nước (Dược điển Anh). Dạng lỏng thuận tiện cho việc phối hợp phenol vào các các dạng bào chế. Tuy nhiên, phenol lỏng không được dùng trong các chế phẩm dầu vì nó không tan trong dầu. Phenol ăn da nên phải được dùng ở dạng pha loãng. Dung dịch 4% của phenol trong glycerin đã được dùng để làm lành vết thương nhỏ. Một số chế phẩm chứa 0.5 - 1.4% phenol dạng xịt, súc họng để điều trị đau họng, đau miệng.

3.2.2. Thymol

3.2.2.1. Tính chất lý hóa



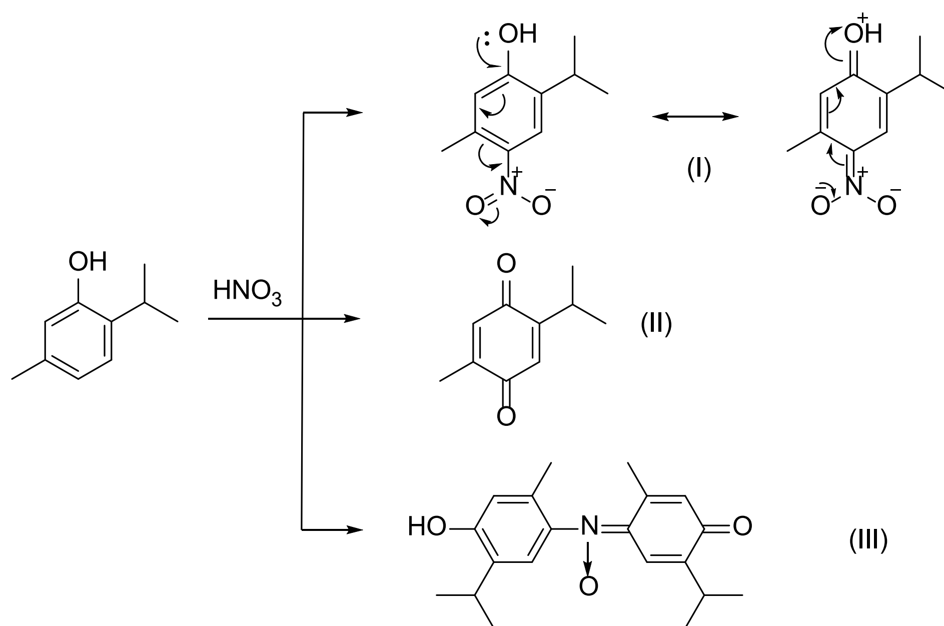
Hình 10.8. Thymol (tên IUPAC: 5-methyl-2-isopropylphenol)

Thymol được chiết xuất từ tinh dầu của *Thymus vulgaris* (cỏ xạ hương). Tinh thể có kích thước lớn, không màu, mùi đặc trưng, vị cay, cháy lưỡi. Thymol ít tan trong nước, dễ tan trong rượu và các dung môi hữu cơ khác. Dạng muối tan trong dung dịch kiềm hóa. Nhiệt độ nóng chảy từ 48 - 52 °C.

3.2.2.2. Kiểm nghiệm

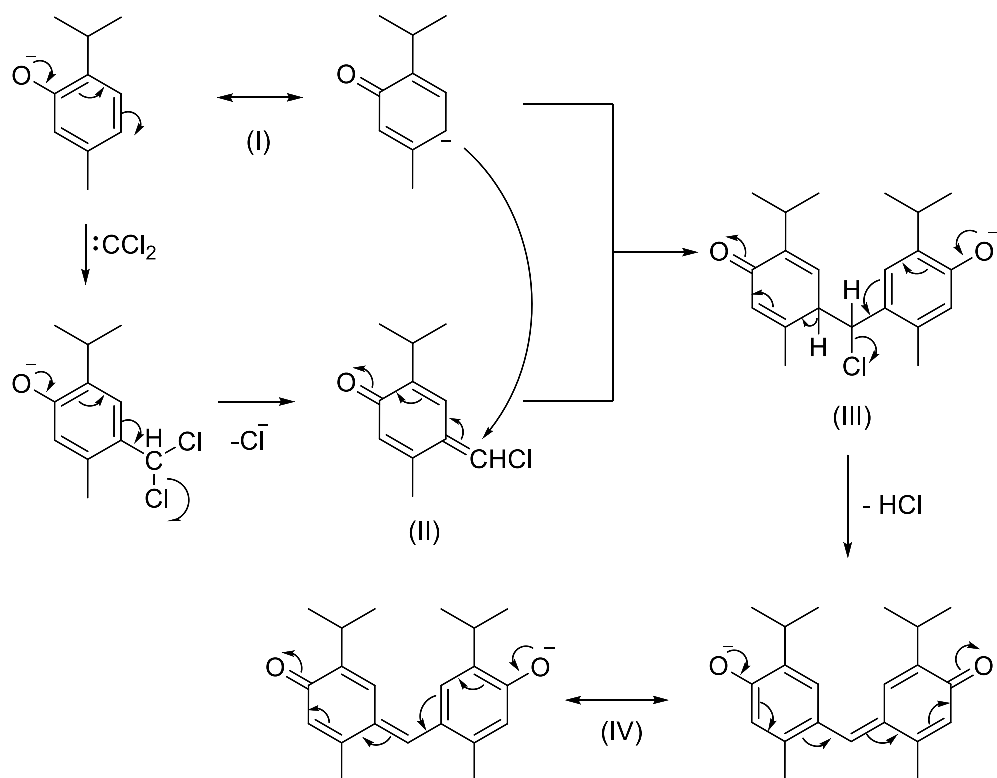
- Định tính:

+ Phản ứng với nitric acid đậm đặc, acid đóng vai trò là chất oxy hóa và nitrate hóa, màu xanh lá có ánh huỳnh quang xuất hiện. Màu sắc này được tạo thành từ hỗn hợp I (màu vàng), II và III (màu xanh dương) [4].



Hình 10.9. Phản ứng giữa thymol và nitric acid đậm đặc

+ Phản ứng Guareschi-Lustgarten: Đun nóng hợp chất với natri hydroxide loãng và chloroform, màu tím đỏ xuất hiện. NaOH có hai vai trò, đó là chuyển phenol thành phenolate và hình thành dichlorocarbene (**:**CCl_2) từ chloroform. Một phần của ion thymolate (I) bị alkyl hóa bởi dichlorocarbene thành (II), chất này đóng vai trò là tác nhân ái điện tử với thymolate (I) để tạo thành dithymylchloromethane (III). Tiếp tục loại chloride và thơm hóa thu được anion màu tím đỏ (IV) có cấu trúc liên hợp oxonol (Hình 10.10) [4].



Hình 10.10. Cơ chế phản ứng Guareschi-Lustgarten

+ Khi cho vào nước lạnh, thymol chìm xuống đáy. Đun lên 52 °C, hợp chất chảy lỏng và nổi lên bề mặt nước vì tinh thể thymol có tỉ trọng cao hơn nước trong khi thymol chảy lỏng có tỉ trọng nhỏ hơn nước.

- Thử tinh khiết:

Phát hiện các phenol khác bằng phản ứng với sắt (III) chloride, ở nồng độ loãng, thymol không cho màu xanh lá.

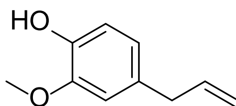
- Định lượng:

Hòa tan thymol bằng natri hydroxide. Định lượng thymol bằng nước bromine trong môi trường hydrochloric acid với chỉ thị methyl da cam [4,5].

3.2.2.3. Ứng dụng

Thymol có khả năng diệt khuẩn được dùng làm nước súc miệng, dung dịch vệ sinh,… Ngoài ra, thymol có khả năng diệt nấm yếu, được dùng ở dạng dung dịch cồn và bột trị nấm da.

3.2.3. Eugenol



Hình 10.11. Eugenol (4-allyl-2-methoxyphenol)

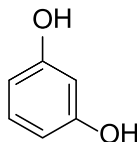
Eugenol là chất lỏng màu vàng nhạt với mùi thơm nồng của đinh hương và vị cay nồng. Là chất ít tan trong nước, trộn lẫn với ethanol và các dung môi hữu cơ khác.

Eugenol chủ yếu thu được từ dầu của cây đinh hương.

Hoạt chất có tác dụng gây tê cục bộ và sát khuẩn nên được thấm vào bông để đắp làm giảm đau răng. Eugenol cũng được phối hợp vào nước súc miệng vì khả năng diệt khuẩn và hương vị dễ chịu.

3.2.4. Resorcinol

3.2.4.1. Tính chất lý hóa



Hình 10.12. Resorcinol

Resorcinol còn được gọi là *m*-dihydroxybenzene, có nguồn gốc tổng hợp, là tinh thể hình kim màu trắng hoặc bột vô định hình, tan trong nước và rượu. Dạng muối tan trong kiềm. Resorcinol có tính acid mạnh hơn phenol với pK_{a1} là 9.15. Tính chất này góp phần tạo nên hiệu ứng -I của nhóm -OH phenol thứ 2. pK_{a2} là 11.32. Nhiệt độ nóng chảy từ 109 - 112 ^{o}C, cao hơn phenol và thymol.

Trong dung dịch acid, độ hấp thụ UV cực đại ở 273 nm; trong dung dịch kiềm là 290 nm. Resorcinol ít ổn định trong dung dịch, đặc biệt là ở pH kiềm. Resorcinol không mùi, nhạy cảm với ánh sáng và dễ bị oxy hóa thành chất có màu. Tính dễ bị oxy hóa có thể được chứng minh bằng cách khử dung dịch Fehling hoặc bạc nitrate/ammonia.

Quá trình oxy hóa xảy ra phức tạp. So với hydroquinone, pyrocatechol, thymol, hợp chất này bền với tác nhân oxy hóa hơn vì *m*-diphenol không trực tiếp chuyển sang quinone.

3.2.4.2. Kiểm nghiệm

- Định tính:

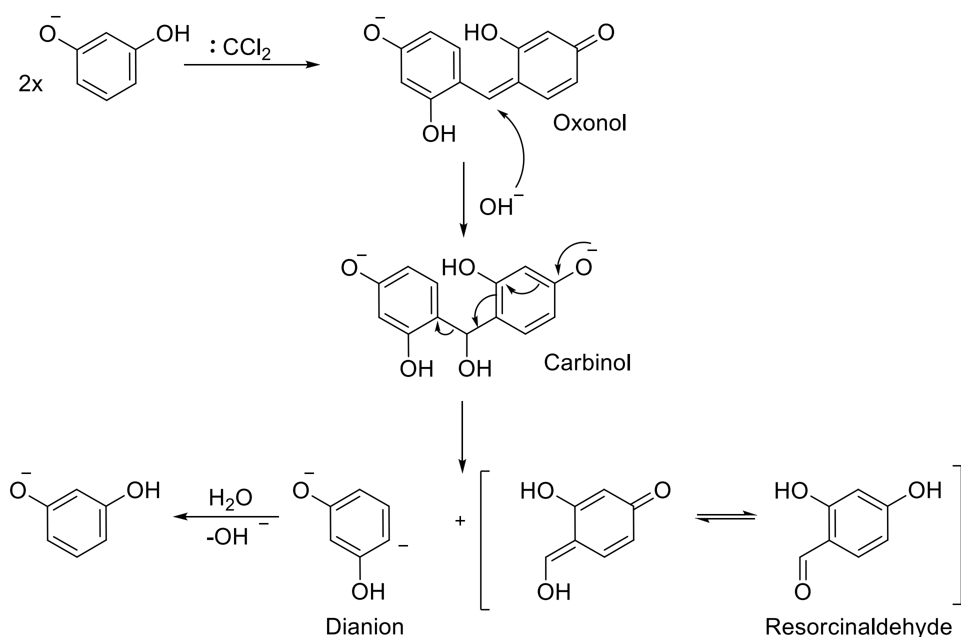
+ Phản ứng với sắt (III) tạo màu xanh tím chuyển sang vàng nâu khi dung dịch được kiềm hóa.

+ Phản ứng với tartric acid và sulfuric acid đậm đặc tạo thành hợp chất màu đỏ tím.

+ Như thymol, phản ứng Guareschi-Lustgarten được dùng để định tính resorcinol.

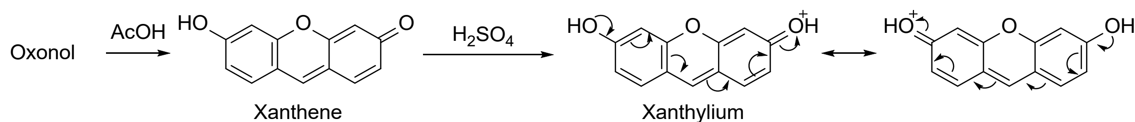
Phản ứng này thích hợp hơn tartric acid trong định tính resorcinol vì resorcinol tạo oxonol màu đỏ máu. Các phenol và naphthol cho màu đỏ tím, tím hoặc xanh dương. Ngoài chloroform, có thể dùng bromoform, iodoform, formaldehyde.

Oxonol cộng với ion hydroxide tạo thành carbinol, chất này phân ly thành dianion và resorcinaldehyde [4].



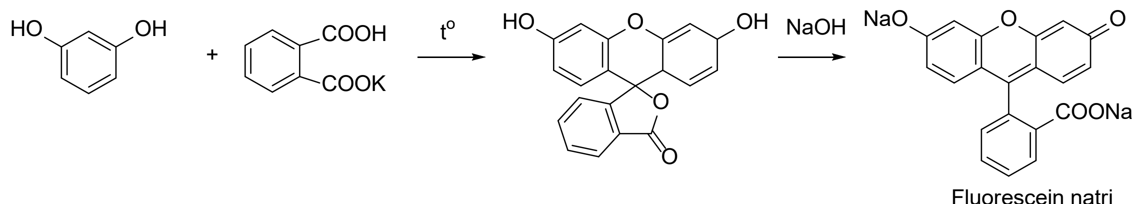
Hình 10.13. Phản ứng Guareschi-Lustgarten của resorcinol

Oxonol chuyển sang màu vàng trong dung dịch acetic acid do sự hình thành xanthene. Xanthene tạo ion xanthylium phát quang mạnh hơn trong môi trường acid mạnh (H_2SO_4).



Hình 10.14. Phản ứng tạo xanthylium từ oxonol của resorcinol

+ Lượng tương đương của resorcinol và kali hydrogenphthalate được đun nóng, trộn đều, làm khô có màu vàng cam. Thêm hydroxide kiềm sẽ có màu xanh lá đậm phát huỳnh quang của fluorescein [4].



Hình 10.15. Phản ứng tạo fluorescein

- Thử tinh khiết:

Các tạp phenol khác như pyrocatechol, hydroquinone, pyrogallol,… có thể bị oxy hóa thành quinone bởi ion bạc.

- Định lượng:

Định lượng bằng nước bromine, tương tự phenol.

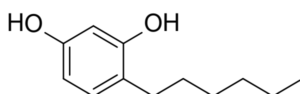
3.2.4.3. Ứng dụng

Resorcinol có tính kháng khuẩn yếu. Tuy nhiên, nó được sử dụng ở nồng độ từ 1% đến 3% trong thuốc mỡ và 10% đến 20% trong bột nhão để điều trị các bệnh như nấm ngoài da, chàm, vẩy nến và viêm da tiết bã. Ngoài khả năng sát khuẩn, resorcinol còn có làm tiêu sừng, bong tróc lớp sừng, giúp hoạt chất dễ xâm nhập qua da hơn [2].

Resorcinol monoacetate là tiền dược phóng thích dần resorcinol, hoạt tính yếu hơn nhưng kéo dài hơn resorcinol.

3.2.5. Hexylresorcinol

3.2.5.1. Tính chất lý hóa



Hình 10.16. Hexylresorcinol

Hexylresorcinol là bột kết tinh hoặc tinh thể hình kim không màu, vàng nhạt hoặc đỏ nhạt, chuyển sang màu hồng khi tiếp xúc với ánh sáng hoặc không khí, có mùi phenol nhẹ, gây tê lưỡi. Hexylresorcinol cũng tồn tại ở dạng vô định hình. Chất này tan tự do trong rượu nhưng ít tan trong nước (1/2000 phần). Nhiệt độ nóng chảy từ 66 - 68 ^{o}C.

3.2.5.2. Kiểm nghiệm

- *Định tính:* Đo phổ IR so sánh với phổ chuẩn, đo nhiệt độ nóng chảy, sắc ký lớp mỏng.

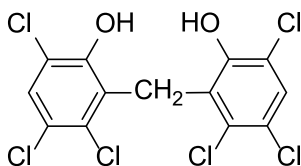
- *Thử tinh khiết:* Giới hạn acid - base, tạp chất liên quan, thử tinh khiết phenol, resorcinol.

- *Định lượng:* Định lượng bằng phép đo iodine với chất chuẩn độ natri thiosulfate.

3.2.5.3. Ứng dụng

Hexylresorcinol có hoạt tính hoạt động bề mặt, có hiệu quả diệt khuẩn và diệt nấm, được dùng trong chế phẩm bôi ngoài da, thuốc xịt. Hợp chất cũng có tác dụng gây tê cục bộ, vì vậy, hexylresorcinol còn được bào chế dạng viên ngậm.

3.2.6. Hexachlorophene



Hình 10.17. Hexachlorophene

Hexachlorophene là một bisphenol hoạt tính mạnh hơn monophenol. Tăng mức độ chlorine hóa làm tăng hiệu lực sát khuẩn. Hoạt chất có hiệu quả chống lại vi khuẩn gram dương nhưng bị kháng bởi nhiều vi khuẩn gram âm.

Hexachlorophene dễ dàng được hấp thu vào da và đi vào các tuyến bã nhờn. Do đó, thuốc có tác dụng sát khuẩn kéo dài, ngay cả ở nồng độ thấp. Hexachlorophene được dùng với nồng độ 2% đến 3% trong xà phòng, kem tẩy rửa, sữa dưỡng thể và dầu gội. Ngoài ra, hexachlorophene được dùng trong phẫu thuật, rửa tay trong chăm sóc bệnh nhân.

Đầu những năm 1970, các báo cáo về độc tính thần kinh ở trẻ sơ sinh tắm bằng hexachlorophene và các vết bỏng được làm sạch bằng chất này đã khiến FDA cấm sử dụng hexachlorophene trong các chế phẩm sát khuẩn không kê đơn và mỹ phẩm [1,2].

3.3. Tác nhân oxy hóa

Phần lớn tác nhân oxy hóa là các hợp chất vô cơ, thí dụ hydrogen peroxide, $KMnO_4$, một số peroxide kim loại và natri perborate.

Hoạt tính sát khuẩn của các tác nhân này thông qua khả năng giải phóng oxy và các dạng oxy hoạt động (Reactive Oxygen Species-ROS). Một số chất oxy hóa như $KMnO_4$, làm biến tính protein, lipid, DNA,… trong vi sinh vật thông qua phản ứng oxy hóa trực tiếp. Chất oxy hóa đặc biệt hiệu quả chống lại vi khuẩn kỵ khí và được dùng làm sạch vết

thương. Sự sủi bọt hình thành trong quá trình giải phóng oxygen giúp đánh bật các mảnh vụn của mô bị tổn thương [1,2].

Hiệu quả của chúng bị hạn chế do kém thâm nhập vào mô. Ngoài ra, tác động của chất oxy hóa thường diễn ra nhanh.

3.3.1. Kali permanganate ($KMnO_4$)

3.3.1.1. Tính chất lý hóa

Là bột dạng hạt hoặc tinh thể sẫm màu hoặc tím đen, thường có ánh kim loại. Tan trong nước lạnh, dễ tan trong nước sôi. Bị phân hủy và dễ gây nổ khi tiếp xúc với một số chất hữu cơ và chất dễ bị oxy hóa.

3.3.1.2. Kiểm nghiệm

- Định tính:

+ $KMnO_4$ phản ứng với ethanol trong môi trường kiềm (NaOH) làm dung dịch chuyển sang màu xanh lá của ion manganate (MnO_4^{2-}). Đun sôi, maganate tiếp tục oxy hóa ethanol tạo MnO_2 (tủa màu nâu xám):



$$C_2H_5OH + 4MnO_4^- + 5OH^- \longrightarrow CH_3\text{–}COO^- + 4MnO_4^{2-} + 4H_2O$$



$$C_2H_5OH + MnO_4^{2-} \longrightarrow CH_3\text{–}CHO + MnO_2 + 2OH^-$$

+ Dịch lọc của phản ứng trên cho phản ứng của ion kali.

- Thử tinh khiết:

Thử giới hạn chất không tan trong nước, chloride và sulfate.

- Định lượng:

Chuẩn độ bằng phép đo iodine: $KMnO_4$ phản ứng với kali iodide trong môi trường acid (HCl). Iodine tạo ra được chuẩn độ bằng natri thiosulfate, chỉ thị hồ tinh bột.

3.3.1.3. Ứng dụng trị liệu

Kali pemanganate tiêu diệt vi sinh vật ở độ pha loãng 1:10.000, nồng độ này không ảnh hưởng đến các mô. Nó được dùng hạn chế trong các tổn thương da [9].

3.3.2. Hydrogen peroxide

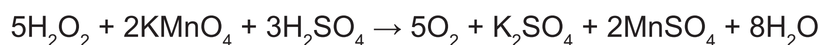
3.3.2.1. Tính chất lý hóa

Hydrogen peroxide (H_2O_2) được sử dụng dạng dung dịch nước, còn gọi là nước oxy già, là dung dịch trong suốt, không màu. H_2O_2 bị phân hủy thành nước và oxygen khi tiếp xúc với chất hữu cơ có tính oxy hóa và với một số kim loại, trong môi trường có tính kiềm, nhiệt độ cao và ánh nắng mặt trời. Cũng vì tính chất này, H_2O_2 là một chất sát khuẩn thân thiện với môi trường.

3.3.2.2. Kiểm nghiệm

- *Định tính:*

+ Với $KMnO_4$ trong sulfuric acid loãng: cho dung dịch không màu hoặc hồng nhạt:



$$5H_2O_2 + 2KMnO_4 + 3H_2SO_4 \rightarrow 5O_2 + K_2SO_4 + 2MnSO_4 + 8H_2O$$

+ Với HCl loãng và KI: màu nâu của KI_3 xuất hiện. Có thể xuất hiện tủa đen của I_2:



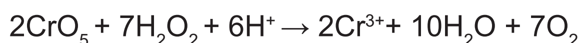
$$H_2O_2 + 3KI + 2HCl \rightarrow KI_3 + 2H_2O + 2KCl$$

+ Lắc chế phẩm trong dung dịch chứa sulfuric acid loãng, ether với kali chromate. Lớp ether có màu xanh dương của chromium(VI) peroxide (CrO_5):



$$CrO_4^{2-} + 2H_2O_2 + 2H^+ \rightarrow CrO_5 + 3H_2O$$

CrO_5 không bền trong dung dịch vì tiếp tục phản ứng với H_2O_2 tạo Cr^{3+}. CrO_5 tan và bền trong ether:



$$2CrO_5 + 7H_2O_2 + 6H^+ \rightarrow 2Cr^{3+} + 10H_2O + 7O_2$$

- *Thử tinh khiết:*

+ Giới hạn acid - kiềm.

+ Giới hạn chất ổn định hữu cơ: Chiết bằng chloroform và cân cắn còn lại sau khi bay hơi.

+ Tạp chất không bay hơi: Bốc hơi trên bếp cách thủy và cân cắn còn lại sau khi bay hơi.

- *Định lượng:*

Chuẩn độ chế phẩm trong dung dịch sulfuric acid loãng với chất chuẩn độ là kali permanganate đến khi màu hồng xuất hiện.

3.3.2.3. Cơ chế tác dụng

Độc tính của hydrogen peroxide đối với vi sinh vật, kể cả bào tử do sự hình thành gốc tự do tấn công protein, màng lipid và DNA, làm giảm tác dụng bảo vệ của catalase trong tế bào vi khuẩn, khiến vi khuẩn bị tiêu diệt. H_2O_2 có khả năng bất hoạt độc tố vi khuẩn như độc tố anthrax, độc tố botulinum,… Các bọt khí oxygen được giải phóng làm bong tróc, loại bỏ các mảnh mô tổn thương.

Mặc dù có hoạt tính chống lại vi khuẩn kỵ khí nhưng hydrogen peroxide xâm nhập vào mô kém và nhanh chóng bị phân hủy bởi catalase. Do đó, hoạt tính kháng khuẩn trong mô yếu.

3.3.2.4. Ứng dụng trị liệu

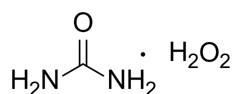
Chế phẩm hydrogen peroxide ổn định trong dung dịch nước khử ion. Các chất ổn định có thể được thêm vào làm chậm quá trình phân hủy: acid vô cơ (H_2O_2 bền nhất trong khoảng pH 3.5 - 4.5); các tác nhân tạo phức với ion kim loại.

Chế phẩm 3% được dùng để sát khuẩn tại chỗ: sát khuẩn da, vết thương, tai, súc miệng khi bị viêm răng lợi. Một thể tích dung dịch 3% tương ứng với mười thể tích oxy. Các ứng dụng khác của H_2O_2 như khử khuẩn sữa, nước dùng cho bệnh viện, rửa hoa quả, thùng chứa thực phẩm, dụng cụ nha khoa và y tế, khử trùng phòng sạch, bệnh viện,… Dạng phun khử trùng có hiệu quả hơn dạng dung dịch. H_2O_2 còn được dùng làm chất tẩy trắng [1,10].

3.3.2.5. Dán nhãn, bảo quản

Nếu chế phẩm có chất ổn định, trên nhãn cần ghi rõ thông tin. Bảo quản tránh ánh sáng, trong thùng tối, nếu chế phẩm không có chất ổn định thì bảo quản dưới 15 ^oC.

3.3.3. Carbamide peroxide



Hình 10.18. Carbamide peroxide

Carbamide peroxide có dạng tinh thể màu trắng hòa tan trong nước, là một phức hợp bền của urea và hydrogen peroxide. Hydrogen peroxide được giải phóng khi trộn lẫn với nước, khi tiếp xúc với mô và dịch cơ thể.

Chế phẩm thương mại là dung dịch hòa tan 12.6% carbamide peroxide trong glycerin khan. Carbamide peroxide được dùng như một chất sát khuẩn và khử khuẩn. Chế phẩm đặc biệt hiệu quả trong điều trị các vết thương trong niêm mạc miệng, thuốc nhỏ tai có tác dụng làm mềm và giúp dễ lấy ráy tai và làm chất tẩy trắng răng.

3.4. Hợp chất chứa halogen

3.4.1. Iodine

3.4.1.1. Giới thiệu

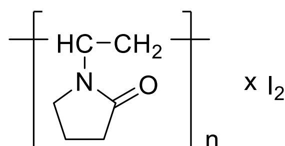
Các chế phẩm chứa iodine bao gồm:

- Cồn iodine (iodine 2% trong dung dịch cồn 50% và KI).

- Dung dịch Lugol (iodine 5% trong nước và KI). Muối iodide tạo phức (I_3^-) với iodine làm tăng độ tan và giảm tính bay hơi, kích ứng của iodine.

- Povidone - iodine.

Iodine có khả năng tạo phức với một số chất diện hoạt và polymer. Các phức hợp này được gọi là các iodophor, làm tăng độ tan trong nước của iodine và giải phóng dần iodine tự do. Iodophor thường dùng nhất là povidone (poly(*N*-vinyl-2-pyrrolidone)) [1].



Hình 10.19. Povidone-iodine

3.4.1.2. Cơ chế tác dụng

Iodine thấm qua thành tế bào vi khuẩn, oxy hóa các nhóm -SH (sulfhydryl) trong protein, oxy hóa các nucleotide và cộng hợp vào liên kết đôi của các acid béo không no trên màng tế bào vi khuẩn. Nhóm hoạt chất này còn có khả năng diệt nấm nhưng cần thời gian tiếp xúc dài hơn.

3.4.1.3. Ứng dụng trị liệu

Iodine là chất sát khuẩn hiệu quả, rẻ tiền và ít độc tính ở nồng độ thường dùng. Povidone-iodine được dùng ở dạng dung dịch nước 10% nhằm sát khuẩn vết mổ trước khi phẫu thuật. Nó cũng được dùng để điều trị vết thương bị nhiễm trùng và tổn thương da. Một số dạng bào chế khác bao gồm bình xịt, bọt, thuốc mỡ, miếng gạc vô trùng, bọt biển, nước súc miệng và chế phẩm khử khuẩn bồn tạo sóng và bồn tắm nước nóng.

Phức hợp này không gây độc, ít bay hơi, ít gây kích ứng da hoặc vết thương.

3.4.1.4. Povidone-iodine

Tính chất lý hóa

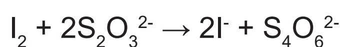
Bột vô định hình màu nâu vàng hoặc nâu đỏ. Tan trong nước và ethanol 96%, thực tế không tan trong acetone. Dung dịch povidone-iodine là chất lỏng màu nâu thẫm.

Kiểm nghiệm

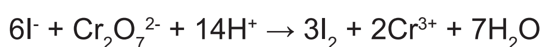
- Định tính:

+ Chế phẩm khi pha loãng trong nước có hồ tinh bột cho dung dịch có màu xanh thẫm.

+ Phản ứng với natri thiosulfate làm mất màu iodine. Dung dịch tạo thành cho tủa màu đỏ (I_2) với kali dichromate trong môi trường acid (HCl):



$$I_2 + 2S_2O_3^{2-} \rightarrow 2I^- + S_4O_6^{2-}$$



$$6I^- + Cr_2O_7^{2-} + 14H^+ \rightarrow 3I_2 + 2Cr^{3+} + 7H_2O$$

- Hàm lượng iodide:

Hàm lượng iodine toàn phần: Thêm natri metabisulfite vào dung dịch chứa povidone-iod cho đến khi màu của iodine biến mất. Thêm lượng dư bạc nitrate và nitric acid. Sau phản ứng tạo tủa AgI, lượng dư bạc nitrate trong dung dịch được chuẩn độ bằng dung dịch ammonium thiocyanate với chỉ thị sắt (III)ammonium sulfate ($NH_4Fe(SO_4)_2$).



$$Na_2S_2O_5 + H_2O \rightarrow 2NaHSO_3$$



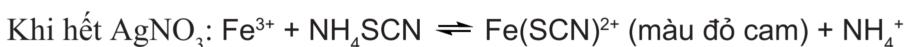
$$I_2 + HSO_3^- + H_2O \rightarrow 2HI + HSO_4^-$$



$$HI + AgNO_3 \rightleftharpoons AgI\downarrow \text{ (tủa vàng)} + HNO_3$$



$$NH_4SCN + AgNO_3 \rightleftharpoons AgSCN\downarrow \text{ (tủa trắng)} + NH_4NO_3$$



Khi hết $AgNO_3$: $Fe^{3+} + NH_4SCN \rightleftharpoons Fe(SCN)^{2+}$ (màu đỏ cam) $+ NH_4^+$

Tính hàm lượng phần trăm iodine toàn phần và trừ cho hàm lượng phần trăm của iodine đã được xác định trong phần định lượng để thu được hàm lượng phần trăm của iodide. Dung dịch povidon-iodine chứa không quá 0.6 % iodide (I^-).

- Định lượng

Chuẩn độ điện thế với dung dịch chuẩn độ natri thiosulfate trong môi trường acid (HCl).

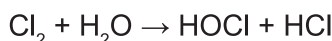
3.4.2. Hợp chất chlorine

3.4.2.1. Giới thiệu

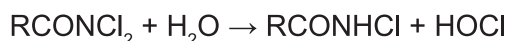
Hợp chất chlorine được dùng khử khuẩn nước sinh hoạt từ rất lâu. Chất đầu tiên là các muối hypochlorite vô cơ như NaOCl và $Ca(OCl)_2$ còn gọi là thuốc tẩy hay nước Javel. Sau đó, các hợp chất *N*-chloro hữu cơ được đưa vào sử dụng. Các hợp chất này giải phóng hypochlorous acid HOCl khi được hòa tan trong nước, chúng ổn định hơn trong môi trường acid. Các hợp chất hữu cơ amide, imide và amidine tạo thành các dẫn xuất *N*-chloro ổn định trong dung dịch. Hiệu quả khử khuẩn tối ưu ở pH 7 [2,3].

3.4.2.2. Cơ chế tác dụng

Cơ chế tác dụng chưa được lý giải đầy đủ. Trong nước, chlorine phóng thích hypochlorous acid có hoạt tính diệt khuẩn do sự chlorine hóa các nguyên tử nitrogen của nhóm amide và oxy hóa nhóm sulfhydryl trong protein, ức chế tổng hợp protein, giảm sự trao đổi chất. Hợp chất chlorine không có tác dụng trên bào tử.



$$Cl_2 + H_2O \rightarrow HOCl + HCl$$



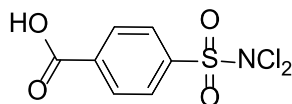
$$RCONCl_2 + H_2O \rightarrow RCONHCl + HOCl$$

3.4.2.3. Ứng dụng trị liệu

Nhóm hoạt chất này được dùng để khử khuẩn dụng cụ, các bề mặt, sàn nhà, vải, xử lý nguồn nước. Chloramine T còn được dùng sát khuẩn vết thương.

3.4.2.4. Các hợp chất

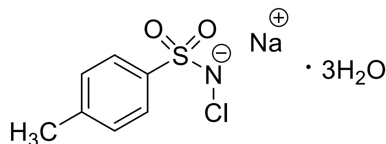
Halazone



Hình 10.20. Halazone

Halazone còn gọi là *p*-dichlorosulfamoylbenzoic acid, là chất kết tinh, màu trắng, nhạy cảm với ánh sáng và có mùi chlorine nhẹ. Halazone ít tan trong nước nhưng rất dễ tan trong dung dịch kiềm. Muối natri của halazone được dùng để khử khuẩn nước uống.

Chloramin T (natri *p*-toluenesulfonchloramide trihydrate)



Hình 10.21. Chloramin T

Chloramine T trihydrate là một *N*-chlorosulfonamide, ở dạng bột kết tinh màu trắng hoặc vàng nhạt có mùi chlorine. Nhiệt độ nóng chảy từ 170 - 177 °C, đây cũng là nhiệt độ phân hủy. Hợp chất không tan trong chloroform, tan trong nước. Bị phân hủy bởi nhiệt sinh ra các khí độc hydrochloride, nitrogen oxide, lưu huỳnh oxide và natri oxide. Dạng khan phát nổ khi đun đến 175 °C.

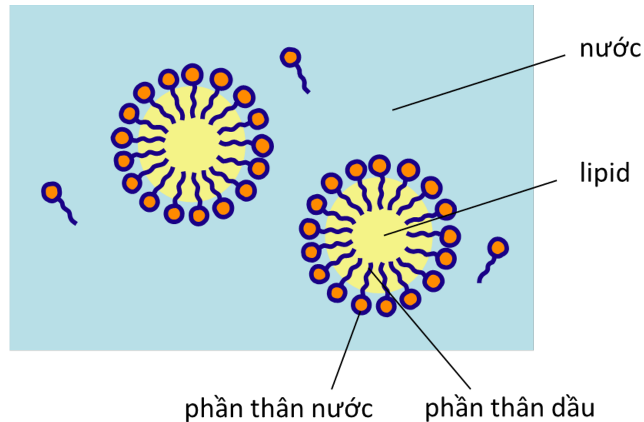
Chloramine T trong nước phóng thích dần HOCl nên có tác dụng kéo dài hơn nước Javel.

3.5. Chất diện hoạt

Chất diện hoạt hay còn gọi là chất hoạt động bề mặt là các hợp chất có cấu tạo chung gồm hai phần: phần thân nước và phần kỵ nước.

Cấu trúc này làm cho các chất diện hoạt có tính chất hoạt động bề mặt: chúng làm giảm sức căng bề mặt của nước và lipid và làm cho hai chất lỏng này "trộn lẫn" với nhau. Khi nồng độ chất diện hoạt đạt tới một ngưỡng xác định gọi là nồng độ tới hạn, các hạt micelle hình cầu được hình thành (Hình 10.22). Trong trường hợp dầu trong nước, phần

kỵ nước của chất diện hoạt hướng vào trong để liên kết với các phân tử lipid; phần thân nước hướng ra ngoài để tiếp xúc với các phân tử nước.



Hình 10.22. Cấu trúc micelle (dầu trong nước)

Dựa vào điện tích của phần thân nước, chất diện hoạt được chia làm:

- Chất diện hoạt cation.

- Chất diện hoạt anion.

- Chất diện hoạt phi ion (không mang điện tích).

- Chất diện hoạt lưỡng tính (amphoteric) [11].

Cơ chế tác dụng

Đích tác dụng chính của các chất diện hoạt là thành tế bào và màng tế bào vi sinh vật. Chất hoạt động bề mặt dễ thấm vào lớp lipid, làm mất tính ổn định, đông vón protein và ly giải tế bào, cản trở hoạt động của enzyme.

Đa số chất diện hoạt dùng làm chất khử khuẩn, sát khuẩn là các chất diện hoạt cation vì thành tế bào vi sinh vật thường tích điện âm nên có ái lực với các cation [1,2].

Ưu nhược điểm

- Ưu điểm: vừa là chất sát khuẩn, khử khuẩn, vừa là chất tẩy rửa; sử dụng rộng rãi trong nhiều dạng chế phẩm, dung dịch tẩy rửa, mỹ phẩm,… Tương đối ít độc, ít ăn mòn, không mùi khó chịu; khả năng tạo micelle giúp trong bào chế các dạng nhũ dịch, hỗn dịch.

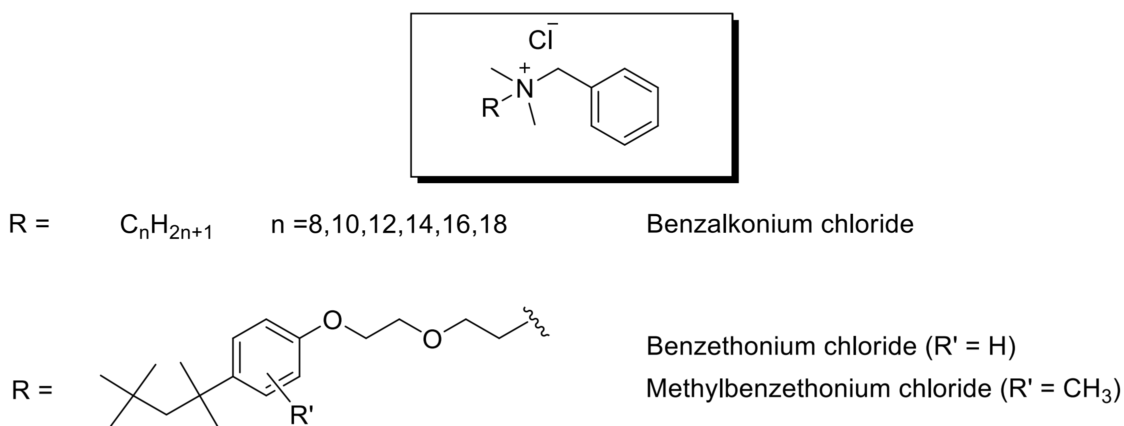
- Nhược điểm: các chất diện hoạt anion và lưỡng tính phải được sử dụng ở pH acid nên có tính ăn mòn, kích ứng; khả năng kháng vi sinh vật bị ảnh hưởng bởi các tác nhân trong môi trường như các chất điện giải (nước cứng), chất béo,…; ở nồng độ cao có thể gây kích ứng da, niêm mạc.

3.5.1. Chất diện hoạt cation

3.5.1.1. Cấu trúc

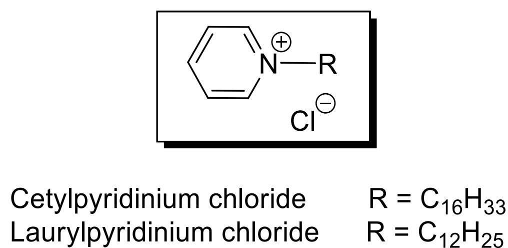
Chất hoạt động bề mặt cation có phần thân nước là các ammonium bậc bốn hoặc muối pyridinium tích điện dương [1,2].

- Các ammonium thường dùng là dẫn chất của dimethylbenzylammonium, phổ biến nhất là benzalkonium chloride, benzethonium chloride, methylbenzethonium chloride (Hình 10.23).



Hình 10.23. Các hợp chất dimethylbenzylammonium chloride

- Các pyridinium phổ biến là alkylpyridinium mạch thẳng như cetylpyridinium chloride và laurylpyridinium chloride (Hình 10.24).



Hình 10.24. Các hợp chất alkylpyridinium chloride

Chuỗi alkyl dài làm tăng hoạt tính bề mặt và tăng hoạt tính kháng khuẩn của hợp chất ammonium bậc bốn [1].

3.5.1.2. Phổ kháng khuẩn

Chất hoạt động bề mặt cation có hoạt phổ rộng trên gram dương và gram âm, nấm và động vật nguyên sinh. Bào tử, *Pseudomonas* và *Mycobacterium tuberculosis* kháng lại các tác nhân này.

3.5.1.3. Ưu - nhược điểm

Chất diện hoạt cation tương đối ít độc hại, ổn định trong dung dịch, không ăn mòn, có khả năng làm tiêu sừng nên thấm vào da tốt hơn. Nhược điểm của nhóm là bị mất hoạt tính trong xà phòng và các chất tẩy rửa anion khác, bị giảm hoạt tính khi có sự hiện diện của các mảnh vụn mô, máu, huyết thanh và mủ, bị hấp phụ trên thủy tinh, bột talc và cao lanh.

3.5.1.4. Các hợp chất

- **Benzalkonium chloride**

Tính chất lý hóa

Benzalkonium chloride là hỗn hợp của alkylbenzyldimethylammonium chloride, các nhóm alkyl có từ 8-18 carbon. Hoạt chất có dạng bột trắng đến vàng nhạt, hút ẩm, tan trong nước, alcohol, acetone. Dung dịch nước không màu, hơi kiềm và rất nhiều bọt.

Kiểm nghiệm

- Định tính:

+ Phổ UV-Vis với các bước sóng cực đại ở 257 nm, 263 nm và 269 nm.

+ Lắc chế phẩm trong dung dịch natri hydroxide, xanh bromophenol và methylene chloride. Lớp methylene chloride từ không màu chuyển sang xanh dương (do benzalkonium tạo micelle của dung dịch xanh bromophenol/NaOH trong methylene chloride).

+ Cho chế phẩm vào dung dịch nitric acid loãng, tủa trắng hình thành, tủa này tan trong ethanol. Dung dịch cho phản ứng của ion chloride.

+ Tạo kết tủa với tetraphenylborate, kết tinh lại và xác định điểm chảy (127 - 133 °C).

- Thử tinh khiết:

+ Giới hạn acid - kiềm.

+ Thử giới hạn tạp benzyl alcohol, benzaldehyde bằng HPLC.

+ Thử giới hạn amine và muối amine bằng chuẩn độ điện thế với chất chuẩn độ là tetrabutylammonium hydroxide. Hơi tạo thành do đun nóng với dung dịch kiềm không có mùi ammonia hoặc làm giấy quỳ tím chuyển sang xanh.

+ Thử giới hạn sulfate.

- Định lượng:

Benzalkonium chloride khi phản ứng với lượng dư kali iodide tạo kết tủa benzalkonium iodide và được loại bỏ bằng cách lắc với methylene chloride (3 lần). Lượng dư KI trong dung dịch được chuẩn độ bằng dung dịch kali iodate (KIO_3) trong môi trường acid (HCl).

Ứng dụng

Benzalkonium chloride là chất tẩy rửa, chất nhũ hóa và tác nhân thấm ướt; sát khuẩn da và màng nhày ở nồng độ từ 1:750 đến 1:20.000; rửa vết thương ở nồng độ 1:20.000 đến 1:40.000; bảo quản dụng cụ phẫu thuật dùng nồng độ 1:750 đến 1:5.000 với 0.5% $NaNO_3$ làm chất bảo quản.

- **Cetylpyridinium chloride** (1-hexadecylpyridinium chloride)

Tính chất lý hóa

Cetylpyridinium chloride là bột màu trắng, rất dễ tan trong nước và alcohol. Dung dịch nước tạo bọt mạnh khi lắc. Nhiệt độ nóng chảy thay đổi từ 77 - 83 °C và 80 - 84 °C.

Kiểm nghiệm

- Định tính:

+ Phổ UV trong nước có cực đại ở 259 nm.

+ Phổ IR so với với phổ chuẩn.

+ Lắc chế phẩm trong dung dịch natri hydroxide, xanh bromophenol và chloroform. Lớp chloroform từ không màu chuyển sang xanh dương.

+ Cho phản ứng của ion chloride.

- Thử tinh khiết: Giới hạn acid - kiềm, giới hạn amine và muối amine, sulfate, nước.

- Định lượng: Tương tự benzalkonium chloride.

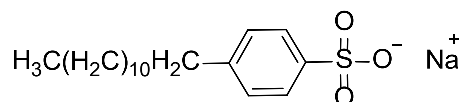
Ứng dụng

Dẫn xuất cetyl là dẫn xuất hoạt động mạnh nhất trong các hợp chất alkylpyridinium. Chất này được dùng sát khuẩn với nồng độ từ 1:100 đến 1:1.000 cho da nguyên vẹn, 1:1.000 đối với da có vết rách nhỏ và 1:2.000 đến 1:10.000 để rửa vết thương màng nhầy. Cetylpyridinium chloride cũng có dạng viên ngậm sát khuẩn tại cổ họng và nước súc miệng với độ pha loãng 1:20.000.

3.5.2. Chất diện hoạt anion

Các chất hoạt động bề mặt anion được phối hợp với acid để pH của chế phẩm từ 2 - 3. Vì điểm đẳng điện của nhiều protein nằm trong khoảng pH này nên điện tích của

protein có thể chuyển từ âm sang dương và do đó, có ái lực với các chất diện hoạt anion. Các chất diện hoạt anion thường phải có nhóm sulfate hay sulfonate để vẫn ở dạng anion ở pH 2 - 3 [1].



Hình 10.25. Natri dodecylbenzenesulfonate

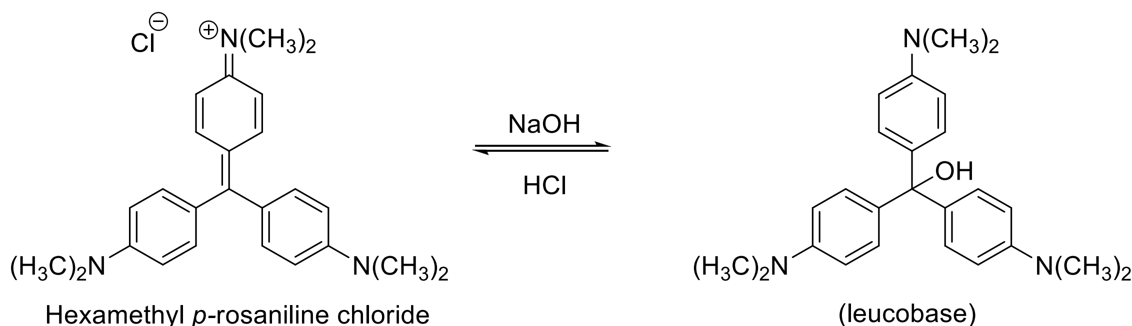
Dẫn chất alkylbenzene sulfonate như natri dodecylbenzenesulfonate là chất hoạt động bề mặt thường phối hợp với hypochlorous acid (HClO) tạo thành phức hợp natri oxychlorosene, có hoạt tính diệt vi sinh vật kể cả bào tử. Hoạt chất này được dùng làm chất sát trùng, rửa vết thương, phun xịt, hoặc thấm ướt băng gạc.

3.6. Thuốc nhuộm

Thuốc nhuộm hữu cơ đã được dùng rất rộng rãi để chống nhiễm trùng trước khi sulfonamide và các kháng sinh được phát hiện. Một số thuốc nhuộm cation vẫn được dùng, bao gồm thuốc nhuộm triphenylmethane (tím gentian, base fuchsin) và thiazine (xanh methylene). Dạng leucobase không màu trong môi trường kiềm.

Thuốc nhuộm cation có hoạt tính với vi khuẩn gram dương và nhiều loại nấm; bị kháng bởi vi khuẩn gram âm. Sự khác biệt về tính nhạy cảm có liên quan đến các đặc điểm cấu trúc tế bào – là cơ sở cho việc nhuộm gram [2,3].

3.6.1. Tím gentian



Hình 10.26. Tím gentian

Tím gentian được biết đến với nhiều tên gọi khác nhau như hexamethyl-*p*-rosaniline chloride, tím pha lê, tím methyl và methyl rosanilin chloride. Hoạt chất có dạng bột màu xanh lá cây hoặc màu xanh lá cây ánh kim loại. Hợp chất có thể tan trong nước (1:35) và alcohol (1:10) nhưng không tan trong dung môi hữu cơ không phân cực.

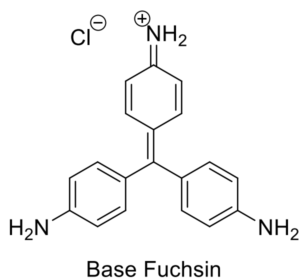
Dung dịch 1% đến 3% để điều trị nấm ngoài da và nấm men.

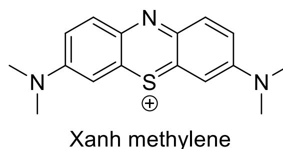
3.6.2. Base fuchsin

Base fuchsin là hỗn hợp các chloride của rosaniline và *p*-rosaniline. Nó tồn tại dưới dạng bột tinh thể màu xanh lá cây với ánh kim loại. Hợp chất tan trong nước, alcohol, không tan trong ether. Base fuchsin là thành phần của dung dịch carbolfuchsin (sơn Castellani) được dùng tại chỗ trong điều trị nhiễm nấm, nhất là nấm ngoài da và nấm da chân.

3.6.3. Xanh methylene

Xanh methylene là 3,7-bis(dimethylamino)phenazathionium chloride, tan trong nước (1:25) và alcohol (1:65). Hoạt chất có dạng màu xanh lá cây đậm, kết tinh, có ánh kim loại nên làm cho nước tiểu và phân có màu xanh. Xanh methylene có tác dụng kìm khuẩn dùng trong điều trị nhiễm trùng da, viêm bàng quang và niệu đạo.





Hình 10.27. Base Fuchsin và xanh methylene

3.7. Hợp chất kim loại nặng

3.7.1. Hợp chất thủy ngân

3.7.1.1. Giới thiệu

Một số muối vô cơ của thủy ngân, như thuỷ ngân (II) chloride ($HgCl_2$) và thuỷ ngân (I) chloride (calomel, Hg_2Cl_2),… đã từng được sử dụng trong y học nhiều thế kỷ để khử khuẩn, trị bệnh nhiễm trùng ngoài da.

Trong số các thủy ngân hữu cơ, nitromersol, thiomersal, phenylmercuric acetate, phenylmercuric nitrate [hỗn hợp của phenylmercuric nitrate và phenylmercuric hydroxide] có dạng chế phẩm lỏng và rắn dùng sát khuẩn và ngừa tạp nhiễm. Mercurochrome (thuốc đỏ) có màu đỏ sáng, hoạt tính kìm khuẩn yếu. Do nguy cơ ngộ độc thủy ngân, các chế phẩm chứa thủy ngân hiện nay ít được dùng [2,3].

3.7.1.2. Tính chất lý hóa

Thủy ngân kém tan trong nước nên tương tác kém với mô. Chế phẩm chứa thủy ngân có thể được chia thành 2 nhóm:

- Hợp chất có ít nhất một liên kết carbon - thủy ngân không ion hóa.

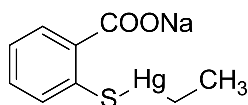
- Hợp chất có thủy ngân liên kết với dị tố (ví dụ: O, N, S) ion hóa một phần hoặc hoàn toàn. Nhóm này dễ phân ly hơn, gốc hữu cơ có thể làm tăng khả năng hòa tan trong lipid, giúp cho việc xâm nhập vào vi khuẩn tốt hơn, ít độc tính và ít kích ứng hơn.

3.7.1.3. Cơ chế tác dụng

Hợp chất thủy ngân phản ứng với nhóm sulfhydryl (R-SH) trong enzyme và các protein khác của vi khuẩn để tạo liên kết cộng hóa trị R-S-Hg-R'. Tác dụng này có thể bị đảo ngược nếu có sự hiện diện của các hợp chất chứa nhóm sulfhydryl như cysteine và dimercaprol (BAL). Do đó, các hợp chất thủy ngân phần lớn là kìm khuẩn. Hoạt tính kháng khuẩn có thể bị giảm đáng kể vì sự hiện diện của các protein trong huyết thanh làm bất hoạt các hợp chất thủy ngân. Các hoạt chất này ít có hiệu quả trên bào tử [2].

3.7.1.4. Các hợp chất

- **Thiomersal**



Hình 10.28. Thiomersal

Thiomersal còn được gọi là thimerosal, merthiolate, dùng ở dạng muối natri, là bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Tan trong nước, ethanol.

Kiểm nghiệm

- *Định tính:* Đo điểm chảy từ 103 - 115 °C, đo phổ IR so sánh với phổ chuẩn.

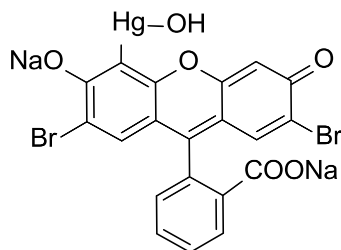
- *Thử tinh khiết:* Kiểm giới hạn acid - kiềm, thử giới hạn hợp chất thủy ngân vô cơ.

- *Định lượng:* Định lượng bằng phương pháp thể tích với chất chuẩn độ là ammonium thiocyanate, chỉ thị sắt (III) ammonium sulfate.

Ứng dụng

Thimerosal là chất kìm khuẩn yếu dùng điều trị nhiễm khuẩn tại chỗ trong thuốc mỡ hoặc dung dịch nước; dùng làm chất bảo quản trong một số vaccine. Hoạt chất không kích ứng mô.

- **Mercurochrome**



Hình 10.29. Mercurochrome

Mercurochrome (còn có tên là merbromin) là muối dinatri của acid [2,7-dibromo-9-(2-carboxyphenyl)-6-hydroxy-3-oxo-3*H*-xanthen-5-yl]-hydroxymercury.

Tính chất

Vảy hay hạt màu nâu đỏ ánh xanh, không mùi. Dễ tan trong nước nhưng đôi khi để lại một lượng nhỏ các tiểu phân không tan được, thực tế không tan trong ether và ethanol.

Kiểm nghiệm

- Định tính:

+ Dung dịch chế phẩm 0.05 % có màu đỏ và cho huỳnh quang xanh vàng.

+ Acid hóa dung dịch chế phẩm cho tủa da cam ánh đỏ.

+ Đun nóng chế phẩm (rắn) với iod, có tinh thể màu đỏ thăng hoa bám trên thành ống nghiệm của HgI_2. Nếu tinh thể màu vàng tạo thành, cọ bằng đũa thủy tinh, màu của tinh thể sẽ chuyển sang màu đỏ (dạng thù hình màu vàng của HgI_2 khi bị chạm vào sẽ chuyển sang dạng thù hình màu đỏ).

+ Nung chế phẩm với NaOH, mercurochrome bị phân hủy giải phóng NaBr. Sau khi acid hóa cắn bằng dung dịch HCl, lắc với nước Javel và chloroform, lớp chloroform có màu nâu vàng (do nước Javel oxy hóa NaBr thành Br_2 tan trong chloroform).

- Thử tinh khiết:

+ Phẩm màu.

+ Halogenide hòa tan.

+ Muối thủy ngân hòa tan.

+ Hợp chất thủy ngân không tan.

- *Định lượng:*

+ Thủy ngân: bằng cách cho phản ứng với lượng dư iodine. Lượng dư iodine sau phản ứng được chuẩn độ bằng dung dịch natri thiosulfate, chỉ thị hồ tinh bột.

+ Bromine: nung chảy chế phẩm với kali nitrate, kali carbonate và natri carbonate khan. Mercurochrome phân hủy và tạo ra các muối bromide. Sau khi acid hóa bằng HNO_3, cho muối bromide phản ứng với lượng dư $AgNO_3$ (tạo tủa AgBr). Lượng $AgNO_3$ thừa được chuẩn độ bằng dung dịch ammonium thiocyanate, chỉ thị sắt (III) ammonium sulfate (xem phần Povidone-iodine).

Ứng dụng

Thuốc sát trùng ngoài da, vết thương.

3.7.2. Muối bạc

3.7.2.1. Cơ chế tác dụng

Ion bạc liên kết với các nhóm chức quan trọng như thiol, amine, phosphate và carboxylate làm thay đổi tính chất và kết tủa protein vi khuẩn, gây ra những thay đổi trên thành tế bào và tế bào chất của vi khuẩn nên có tác dụng diệt khuẩn. Ngoài ra, một lượng nhỏ ion bạc sau đó được giải phóng khỏi phức hợp protein bạc có tác dụng kìm khuẩn kéo dài.

3.7.2.2. Các hợp chất

- **Bạc nitrate**

Tính chất

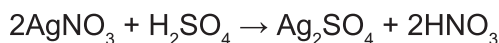
Bạc nitrate ($AgNO_3$) có ở dạng bột kết tinh màu trắng hoặc không màu, dễ tan trong nước, tan trong ethanol.

Kiểm nghiệm

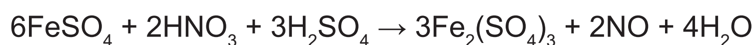
- *Định tính:*

+ Hòa tan chế phẩm trong nước. Thêm dung dịch HCl sẽ có tủa trắng (AgCl) không tan trong dung dịch nitric acid, nhưng tan trong dung dịch ammonia loãng vì tạo phức $[Ag(NH_3)_2]Cl$ tan trong nước.

+ Hòa tan chế phẩm trong nước, thêm H_2SO_4 đậm đặc. Lắc đều và để nguội. Cho cẩn thận dọc theo thành ống nghiệm dung dịch sắt (II) sulfate 8%. Ở vùng tiếp giáp giữa hai lớp có một vòng màu nâu của sắt (III) sulfate.



$$2AgNO_3 + H_2SO_4 \rightarrow Ag_2SO_4 + 2HNO_3$$



$$6FeSO_4 + 2HNO_3 + 3H_2SO_4 \rightarrow 3Fe_2(SO_4)_3 + 2NO + 4H_2O$$

- Thử tinh khiết:

+ Màu sắc: Dung dịch trong nước trong suốt và không màu.

+ Thử giới hạn acid – base.

+ Thử giới hạn tạp muối khác trong cắn hydrochloric acid loãng.

+ Tạp nhôm, chì, đồng và bismuth.

- Định lượng:

Định lượng bằng phương pháp chuẩn độ thể tích với chất chuẩn độ là ammonium thiocyanate, chỉ thị sắt (III) ammonium sulfate. Xác định điểm tương đương khi có màu vàng đỏ xuất hiện.

Ứng dụng trị liệu

Dung dịch bạc nitrate có tính diệt khuẩn cao, tiêu diệt hầu hết các vi sinh vật ở nồng độ 0.1%. Nồng độ thấp hơn có khả năng kìm khuẩn. Bạc nitrate đặc biệt hiệu quả chống lại gonococci. Dung dịch 1% được dùng dự phòng nhiễm trùng mắt ở trẻ sơ sinh. Dung dịch 5% thường kết hợp với kháng sinh để điều trị bỏng diện rộng. Các chế phẩm keo bạc ít gây tổn thương mô.

Bảo quản

Trong bao bì không được làm từ kim loại, tránh ánh sáng.

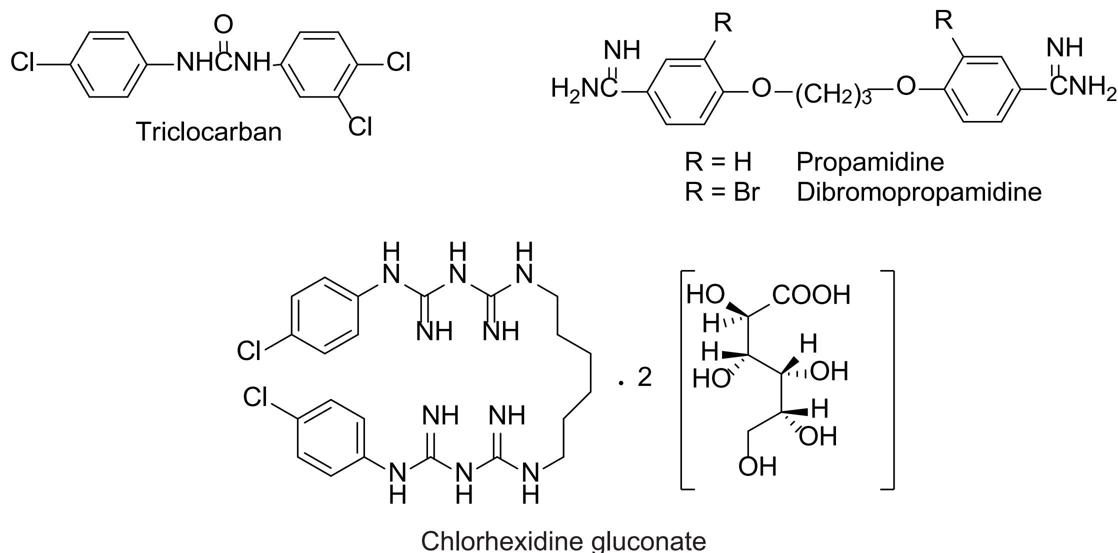
- **Bạc sulfadiazine** (xem bài sulfamide kháng khuẩn)

Bạc sulfadiazine có khả năng thấm tốt và có hiệu quả chống lại nhiều loại vi khuẩn, kể cả *Pseudomonas aeruginosa,* được sử dụng trong điều trị bỏng trên diện rộng dưới dạng kem 1%.

3.8. Hợp chất nhóm diarylurea, amidine và biguanide

Diarylurea là tác nhân diệt khuẩn mạnh. Triclocarban được dùng trong chất tẩy rửa, xà phòng vệ sinh và dược mỹ phẩm. Propamidine và dibromopropamidine là các diamidine có tác dụng mạnh trên vi khuẩn gram dương.

Mặc dù không phải là ammonium bậc bốn nhưng biguanide có nhiều tính chất vật lý, hóa học và hoạt tính kháng khuẩn như chất hoạt động bề mặt cation. Biguanide kháng khuẩn quan trọng nhất là chlorhexidine [1-3].

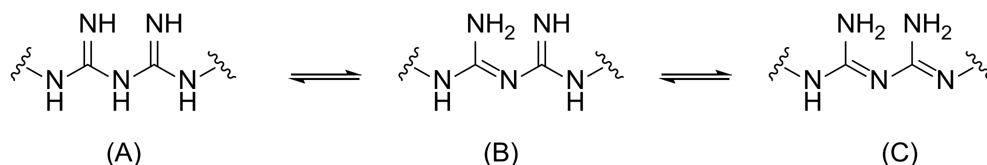


Hình 10.30. Triclocarban, propamidine, dibromopropamidine và chlorhexidine gluconate

Tính chất lý hóa

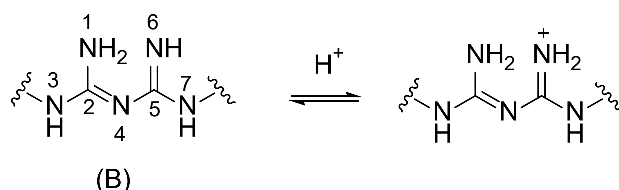
Chlorhexidine mang hai nhóm biguanide nên có tính base mạnh. Dạng base không tan trong nước nên được sử dụng dưới dạng muối như gluconate, acetate, hydrochloride. Chlorhexidine gluconate là bột tan trong nước, ethanol, hầu như không màu hoặc vàng nhạt.

Nhóm biguanide có nhiều dạng hỗ biến khác nhau, trong dạng (B) và (C) là hai dạng bền nhất (Hình 10.31).



Hình 10.31. Các dạng hỗ biến bền nhất của nhóm biguanide

Nghiên cứu sự phân bố điện tích cho thấy vị trí N6 tích điện âm nhiều nhất nên là vị trí bị proton hóa (Hình 10.32). Vì có hai nhóm biguanide, chlorhexidine gắn với 2 proton khi phản ứng với acid, tạo dication [12].



Hình 10.32. Vị trí bị proton hóa của nhóm biguanide

Kiểm nghiệm

- *Định tính:*

+ Phổ IR so với phổ chuẩn.

+ Sắc ký lớp mỏng.

+ Hòa tan chế phẩm trong dung dịch cetrimide ấm trong môi trường kiềm mạnh (NaOH), chlorhexidine bị thủy phân tạo thành *p*-chloroaniline, sau đó bị oxy hóa bởi natri hypobromite (NaBrO) thành các sản phẩm có màu đỏ đậm. Cetrimide là chất diện hoạt cation có vai trò ngăn sự kết tủa của chlorhexidine [5].

+ Hòa tan trong hydrochloric acid, kiềm hóa, kết tủa, tái kết tinh bằng ethanol 70%. Sản phẩm thu được (chlorhexidine dạng base) có nhiệt độ nóng chảy từ 132 - 136 ^{o}C.

- *Thử tinh khiết:* Kiểm tạp *p*-chloroaniline và các tạp chất liên quan khác.

- *Định lượng:*

Chuẩn độ trong môi trường acetic acid khan với chất chuẩn độ là perchloric acid [5].

Cơ chế tác dụng

Chlorhexidine có hoạt tính kháng khuẩn mạnh. Phổ kháng khuẩn rộng nhưng không có hoạt tính chống lại vi khuẩn kháng acid (acid-fast bacteria), bào tử hoặc virus.

Hoạt chất tác động lên thành tế bào, vì là một dication nên liên kết mạnh mẽ với hợp chất chứa phosphate trên bề mặt vi khuẩn, làm phá hủy màng tế bào, kháng lại cơ chế bơm ngược của vi khuẩn, làm rò rỉ chất có trọng lượng phân tử thấp ra khỏi tế bào vi khuẩn.

Ứng dụng

Chlorhexidine được dùng tại chỗ như sát khuẩn da trước khi phẫu thuật, rửa vết thương, nước súc miệng, thuốc nhỏ mắt và vệ sinh cơ thể.

Ưu điểm của chlorhexidine là không được hấp thu qua da hoặc màng nhày và không gây ra nhiễm độc toàn thân; ít kích ứng da, vết thương và màng nhày; chlorhexidine còn được lưu lại trên da sau khi rửa nên có thể kìm hãm sự phát triển trở lại của vi khuẩn. Chlorhexidine tồn tại dưới dạng dication tại pH sinh lý và bị bất hoạt khi trộn lẫn với chất tẩy rửa anion và anion vô cơ trong nước (như phosphate, carbonate và silicate).

Dung dịch 4% chlorhexidine gluconate được dùng để làm sạch vết thương, điều trị vết bỏng. Dung dịch 0.2% được dùng để làm nước súc miệng loại bỏ mảng bám vi khuẩn.

Câu hỏi tự lượng giá

1. Phân tích mối liên quan giữa tính chất lý hóa - kiểm nghiệm của alcohol?
2. Phân tích mối liên quan cấu trúc - tác dụng của alcohol?
3. Phân tích mối liên quan cấu trúc - kiểm nghiệm và cấu trúc - tác dụng của phenol và dẫn chất?
4. Phân tích cơ chế tác dụng của các tác nhân oxy hóa?
5. Phân tích mối liên quan giữa tính chất lý hóa và tác dụng của hợp chất thủy ngân?
6. Dựa vào cấu trúc, giải thích cơ chế kháng khuẩn của chlorhexidine?

Tài liệu tham khảo

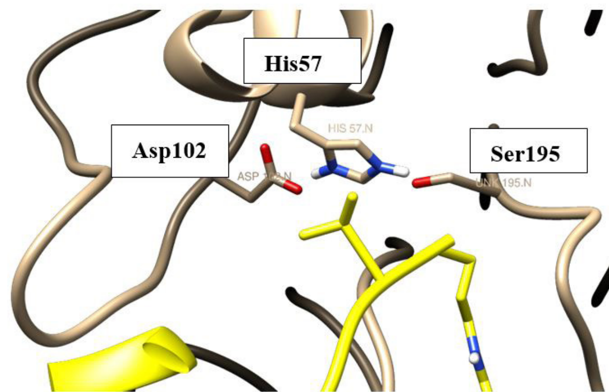
1. Abrahma DJ. Burger's Medicinal chemistry drug discovery. 6th ed, vol 5. Wiley-interscience, A JohnWiley and Sons, Inc., Publication, 2016.
2. Beale JM, Block JH. Wilson and Gisvold's Textbook of Organic medicinal and pharmaceutical chemistry. 12th. Lippincott Williams & Wilkins, 2011, pp.179-190.
3. Mcdonnell G. Antisepsis, disinfection, and sterilization types, action, and resistance. 2nd ed. United States: ASM Press; 2017.
4. Roth HJ, Eger K., Troschütz R. Pharmaceutical chemistry, Vol II. Ellis Horwood Limited, England, 1991.
5. British Pharmacopoeia. Vol I, II, III. 2015.
6. Kampf G. Antiseptic stewardship: biocide resistance and clinical implications. Switzerland: Springer; 2018.
7. Maier A, Ovesen JL, Allen CL, York RG, Gadagbui BK, Kirman CR et al. Safety assessment for ethanol-based topical antiseptic use by health care workers: Evaluation of developmental toxicity potential. Regul Toxicol Pharmacol. 2015; 73(1):248-264.
8. Clarke P, Craig JV, Wain J, Tremlett C, Linsell L, Bowler U et al. Safety and efficacy of 2% chlorhexidine gluconate aqueous versus 2% chlorhexidine gluconate in 70% isopropyl alcohol for skin disinfection prior to percutaneous central venous catheter insertion in preterm neonates: the ARCTIC randomised-controlled feasibility trial protocol. BMJ Open. 2019; 9(2):e028022.
9. Anderson I. Should potassium permanganate be used in wound care? Nurs Times. 2003; 99(31):61.

10. Urban MV, Rath T, Radtke C. Hydrogen peroxide (H_2O_2): a review of its use in surgery. Wien Med Wochenschr. 2019; 169(9-10):222-225.

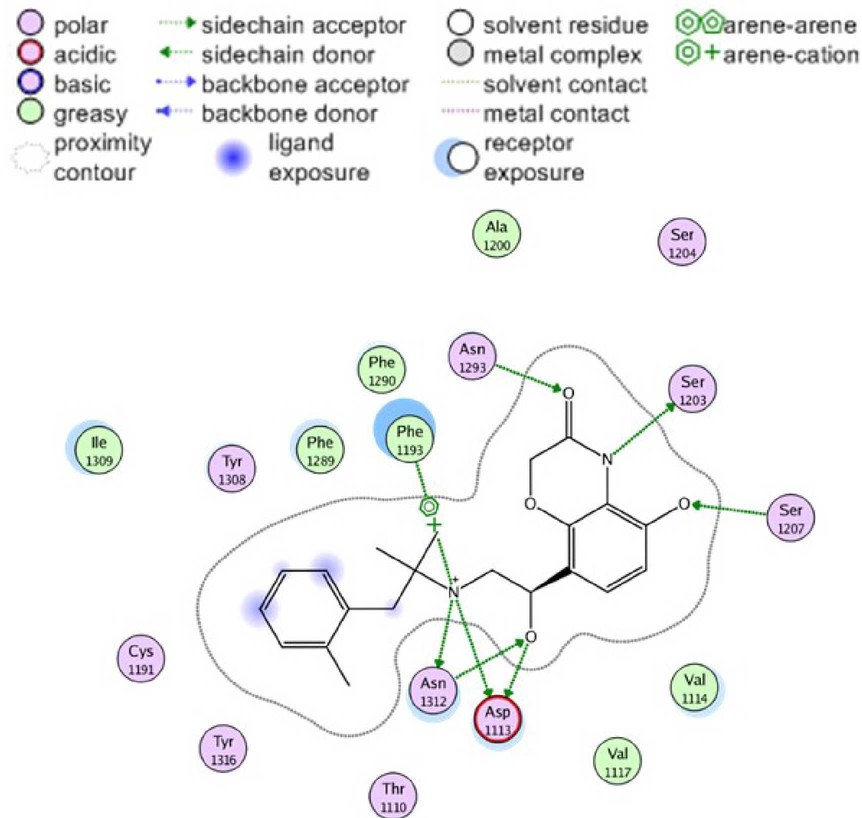
11. Falk NA. Surfactants as Antimicrobials: A Brief Overview of Microbial Interfacial Chemistry and Surfactant Antimicrobial Activity. J Surfactants Deterg. 2019 Sep; 22(5):1119-1127.

12. Bharatam PV, Patel DS, Iqbal P. Pharmacophoric features of biguanide derivatives: an electronic and structural analysis. J Med Chem. 2005 Dec 1; 48(24):7615-7622.

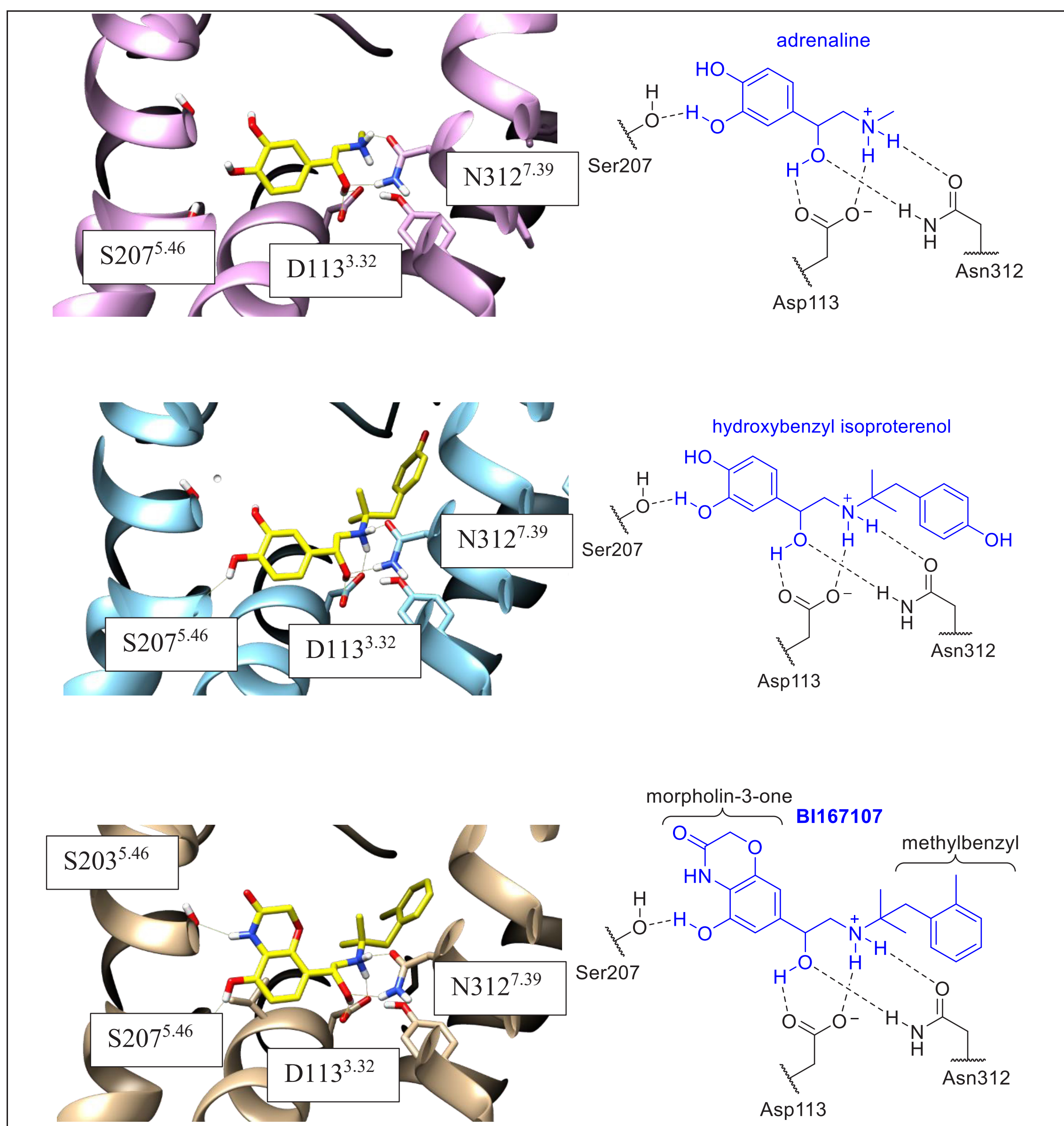
PHỤ LỤC



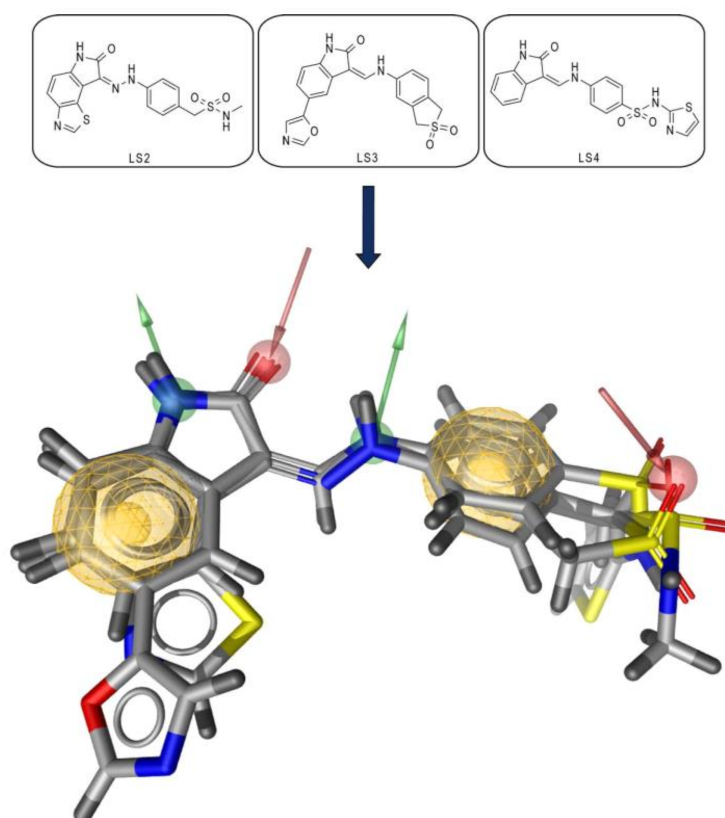
Hình 1.6. Bộ 3 xúc tác của thrombine (thuộc nhóm serine protease) gắn kết với peptide fibrinogen (màu vàng) (PDB: 1BBR). Cấu trúc tinh thể thể hiện trạng thái trung gian giữa 6 và 1 (Hình 1.7) khi cơ chất đã được cắt nhưng vẫn chưa rời khỏi enzyme



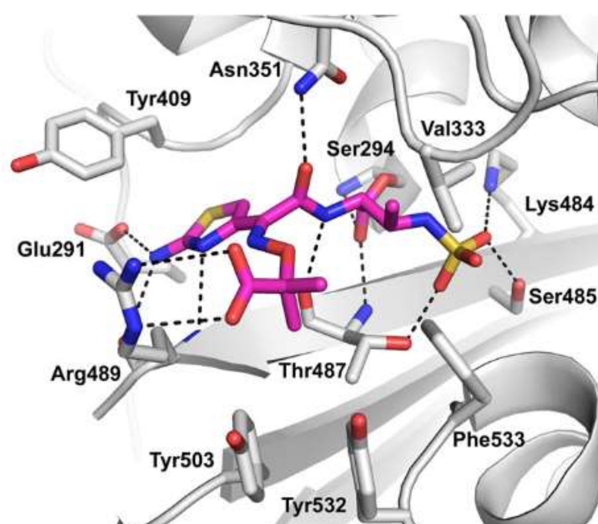
Hình 1.9. Sơ đồ tương tác 2D giữa BI167107 và thụ thể β_2-adrenergic. PDB:4LDE



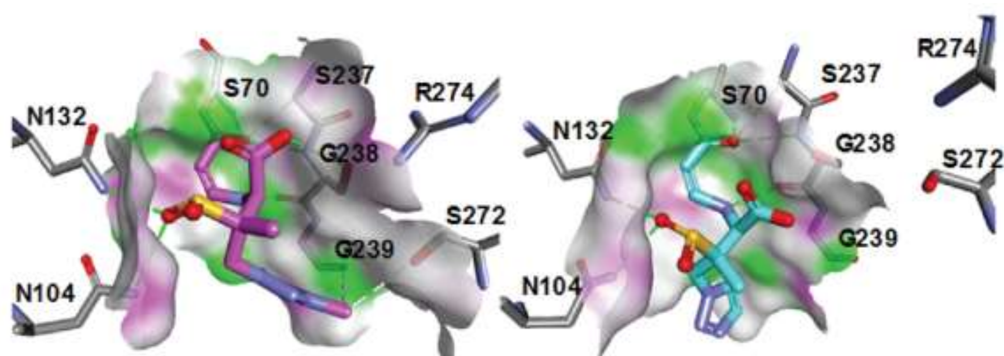
Hình 1.8. Tương tác của adrenaline, hydroxybenzyl isoproterenol và BI167107 với thụ thể β_2-adrenergic. PDB: 4LDO, 4LDL và 4LDE



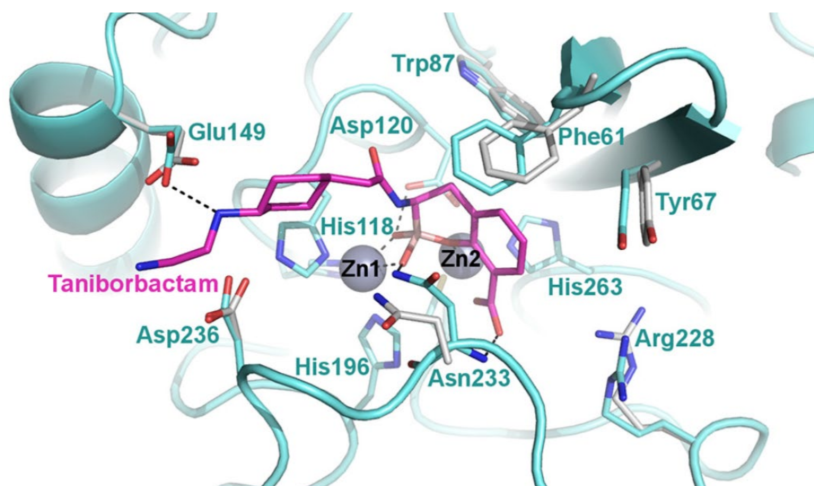
Hình 4.20. Ví dụ mô hình pharmacophore được tạo bởi chương trình LigandScout từ bộ ba chất ức chế CDK2 (LS2, LS3, LS4). Hình cầu màu vàng: vùng kỵ nước, mũi tên màu đỏ: nhóm nhận liên kết hydro, mũi tên màu xanh lá cây: nhóm cho liên kết hydro [11]



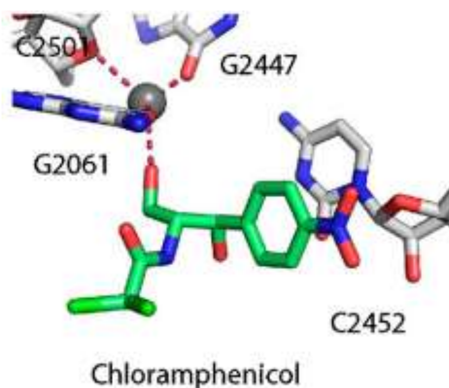
Hình 5.2.52. Cấu trúc tinh thể của phức hợp aztreonam-acyl-PBP3 của *P. aeruginosa* [35]



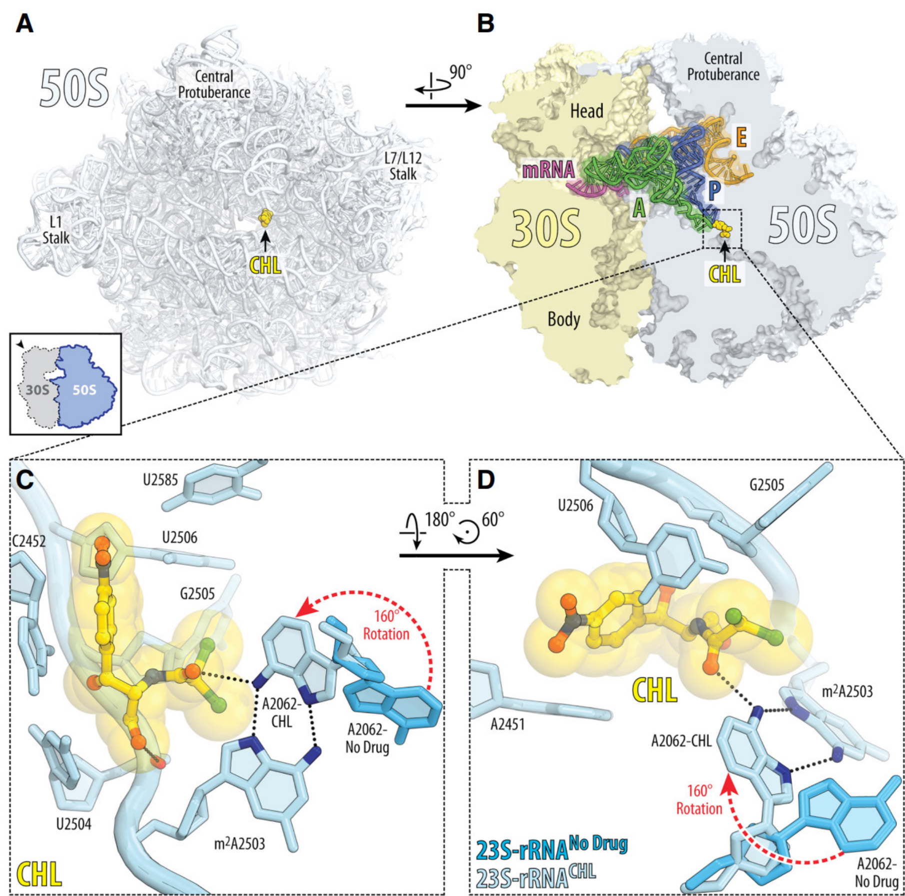
Hình 5.2.58. Kết quả mô phỏng động lực học phân tử (molecular dynamics) so sánh liên kết giữa enmetazobactam (bên trái) và tazobactam (bên phải) với một β-lactamase. Nhóm methyl của enmetazobactam tạo liên kết với amino acid G239 và S272 [38]



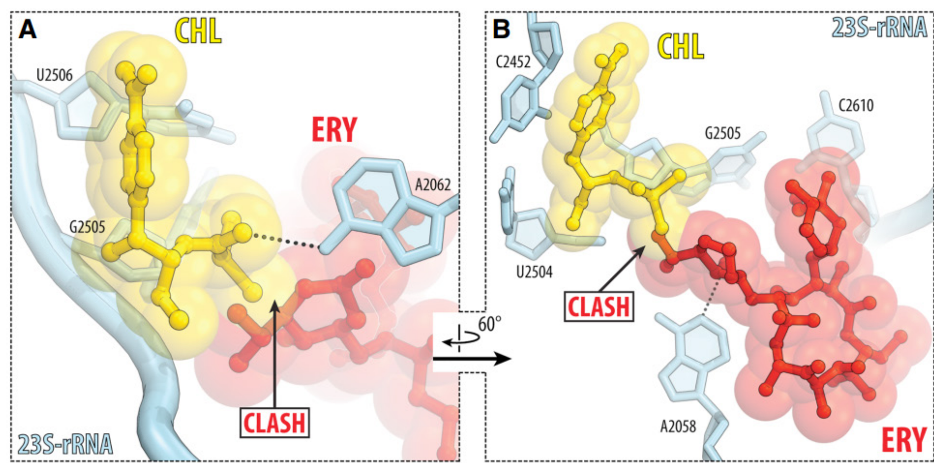
Hình 5.2.61. Cấu trúc tinh thể của phức hợp VIM-2 (một loại MBL) và taniborbactam [41]



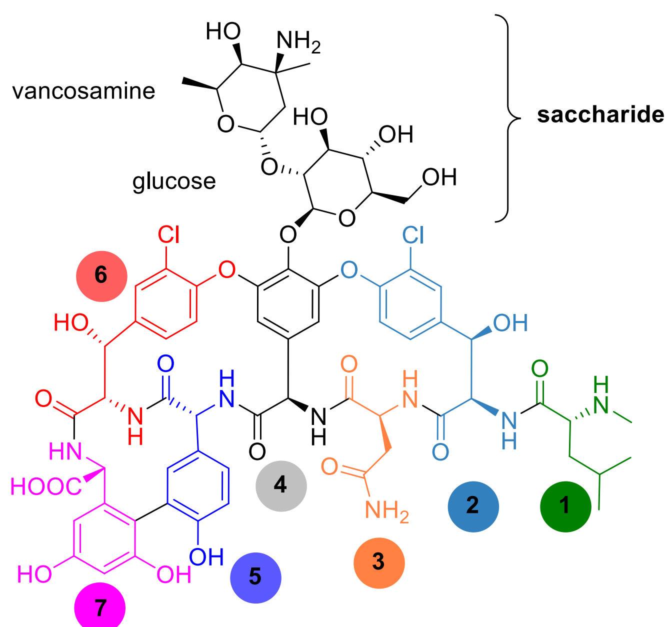
Hình 5.4.6. Cấu trúc tinh thể đồng kết tinh giữa ribosome của *Thermus thermophilus* và chloramphenicol (màu xanh lá) cho thấy phức hợp với ion K^+ (màu xám) [7]



Hình 5.4.5. Cấu trúc tinh thể đồng kết tinh giữa ribosome của *Thermus thermophilus* và chloramphenicol (màu vàng) [6]

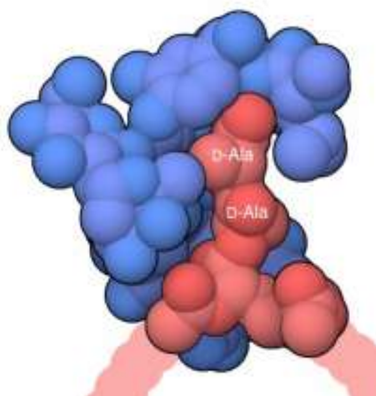


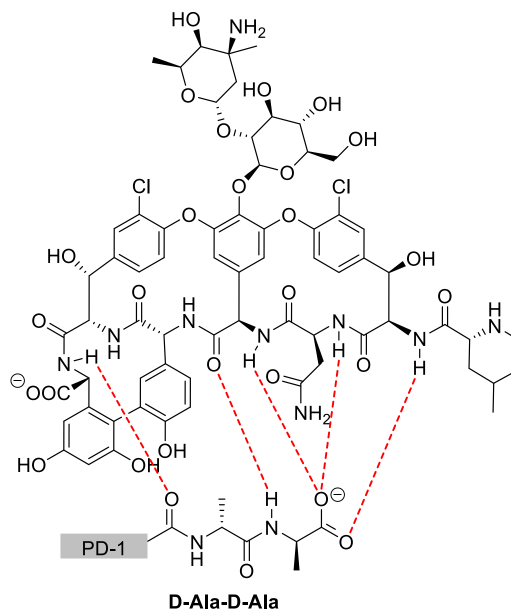
Hình 5.4.7. Sự trùng lặp về vị trí gắn của nhóm dichloroacetyl (của chloramphenicol) và nhóm dimethylamine (của erythromycin) trên r50S [6]



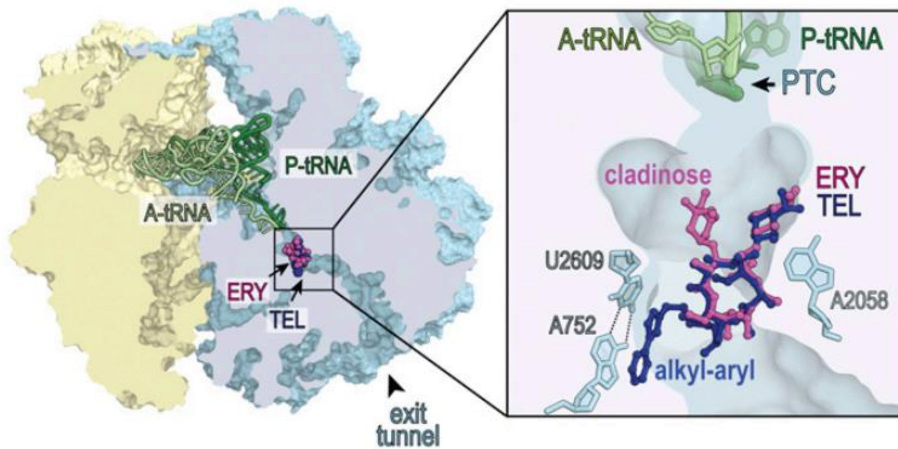
Hình 5.6.1. Cấu trúc của vancomycin. Các amino acid của heptapeptide được đánh số từ 1 đến 7

(1): *N*-methyl-D-leucine; (2): *m*-chloro-β-hydroxy-D-tyrosine; (3): asparagine; (4) (2-[α-4-L-*epi*-vancosaminyl]-β-1-D-glucosyl)-D-phenylglycine; (5): *p*-hydroxy-D-phenylglycine; (6): *m*-chloro-β-hydroxy-D-tyrosine; (7): *m,m*-dihydroxy-L-phenylglycine.

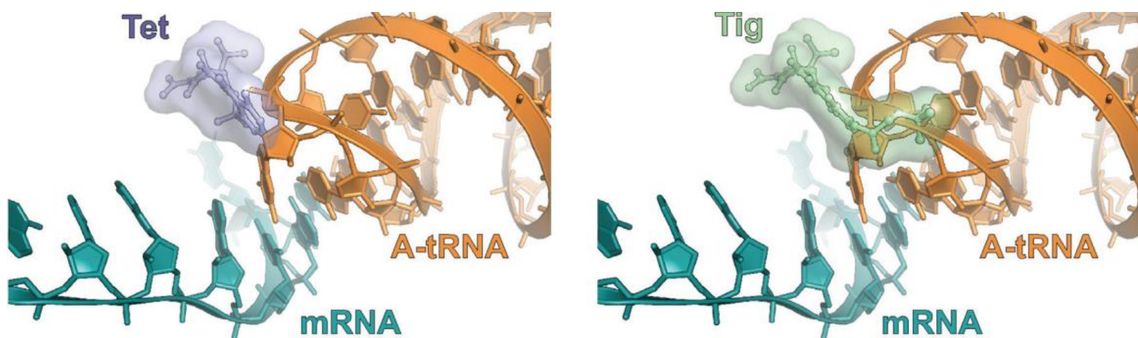




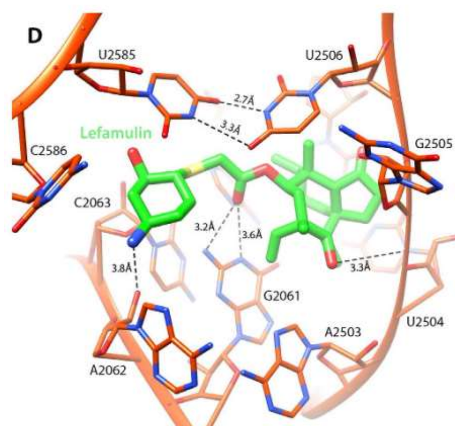
Hình 5.6.5. Bên trái: hình ảnh phác họa cấu trúc tinh thể giữa vancomycin (màu xanh) và một dẫn xuất của D-Ala-D-Ala (màu đỏ) [5];
Bên phải: liên kết hydro giữa vancomycin và D-Ala-D-Ala [6]



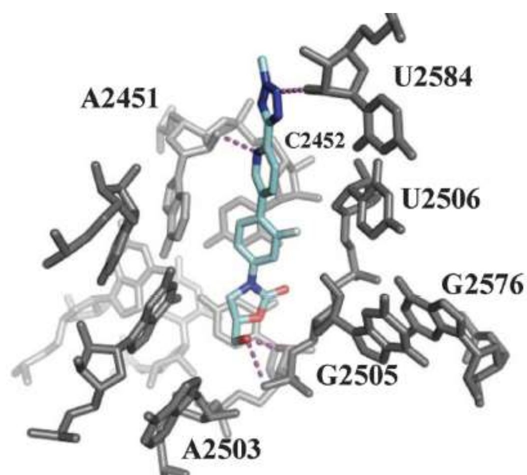
Hình 5.7.2. Vị trí gắn kết của erythromycin (ERY) và telithromycin (TEL) trên tiểu đơn vị 50S [2]



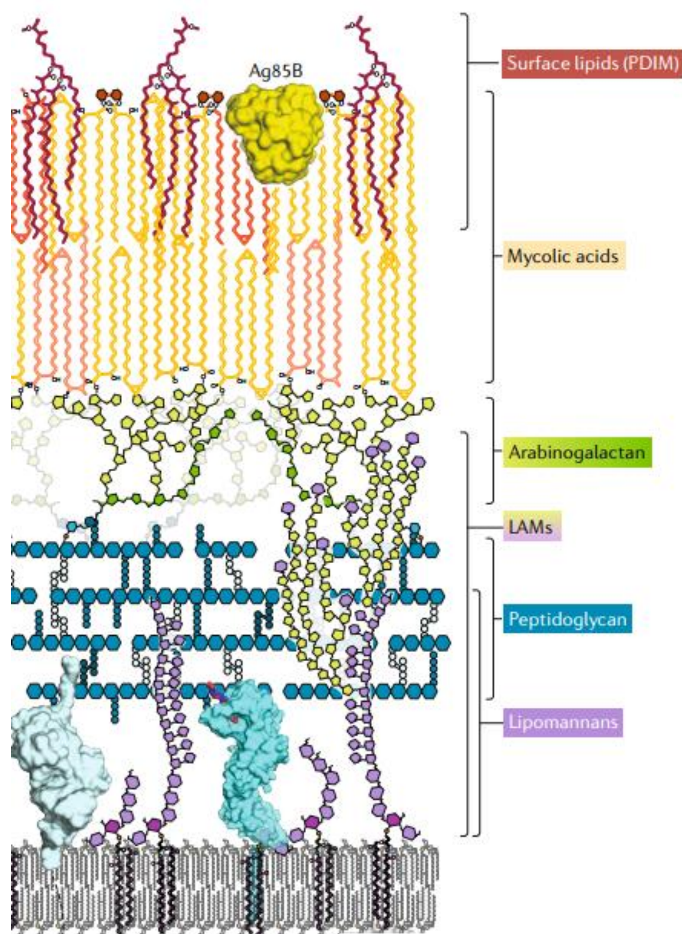
Hình 5.8.16. So sánh vị trí gắn kết của tetracycline (Tet) và tigecycline (Tig). Nhóm 9-*t*-butylglycylamido trùng lấp với một phần của A-tRNA [10].



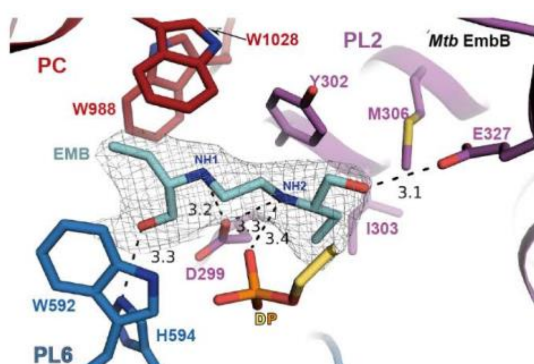
Hình 5.9.2. Cấu trúc tinh thể của r50S của *S. aureus* đồng kết tinh với lefamulin [3]

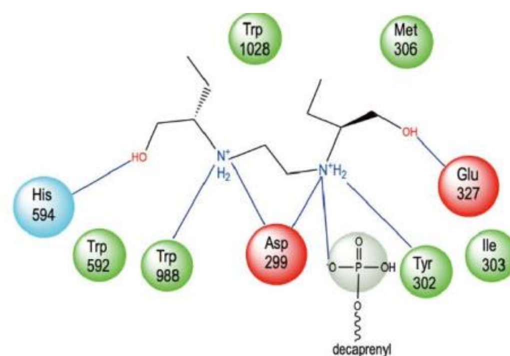


Hình 5.12.6. Mô hình docking của tedizolid lên r50S [10]

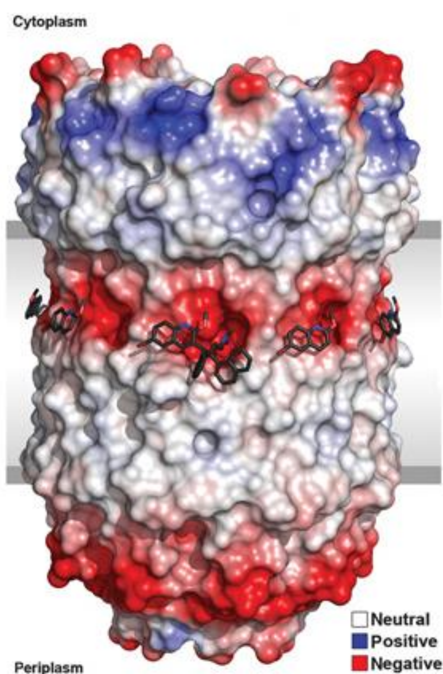


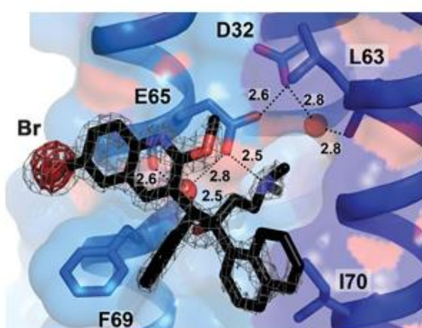
Hình 5.13.1. Cấu tạo thành tế bào vi khuẩn lao [3]

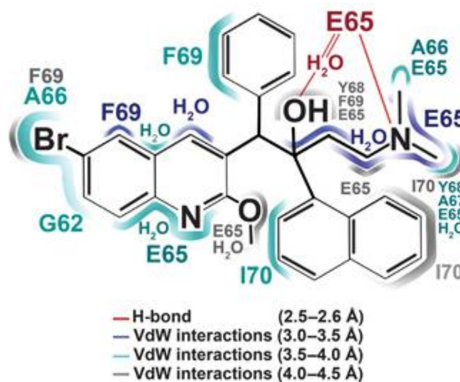




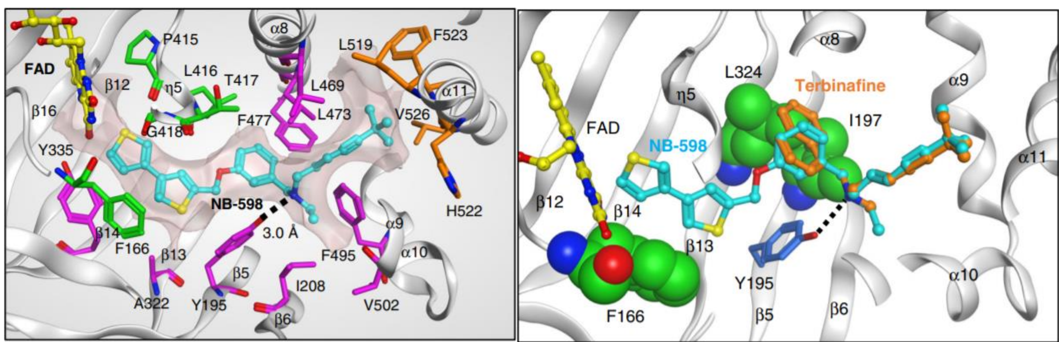
Hình 5.13.29. Vị trí gắn kết của ethambutol với EmbB của vi khuẩn lao [13]



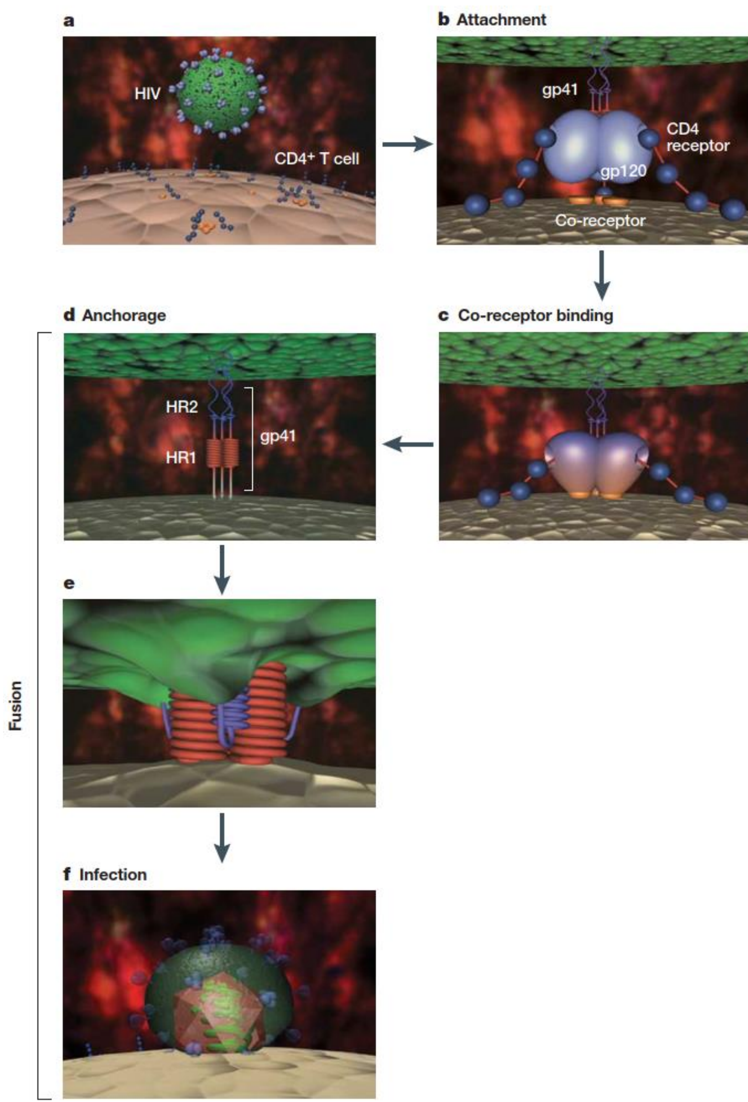




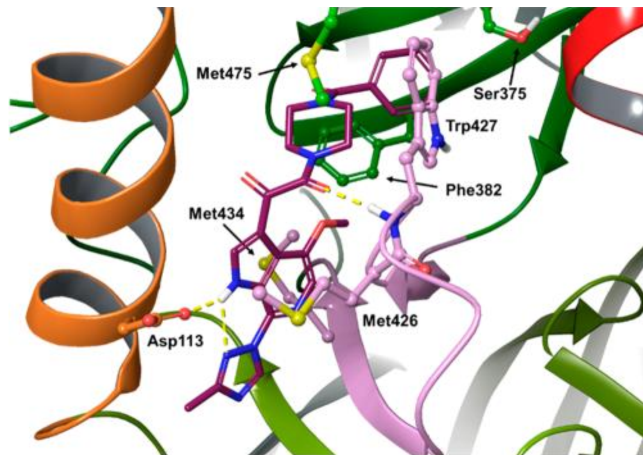
Hình 5.13.46. Cấu trúc tinh thể đồng kết tinh của BDQ với tiểu đơn vị c của ATP synthase [24]



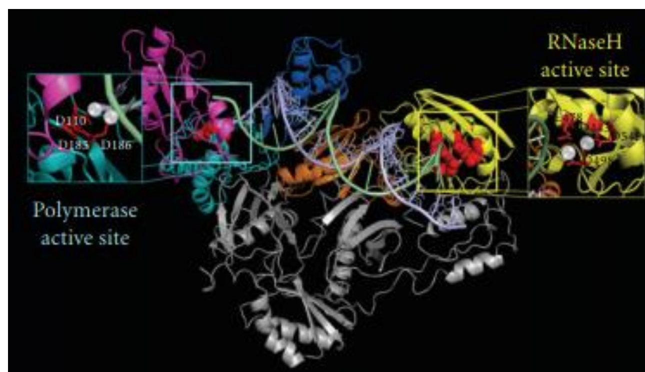
Hình 6.20. (trái) Cấu trúc của chất NB-598 (màu xanh lơ);
(phải) Sự chồng ảnh của terbinafine (màu cam) và chất NB-598 (màu xanh lơ)
bên trong túi xúc tác của squalene epoxidase [27]



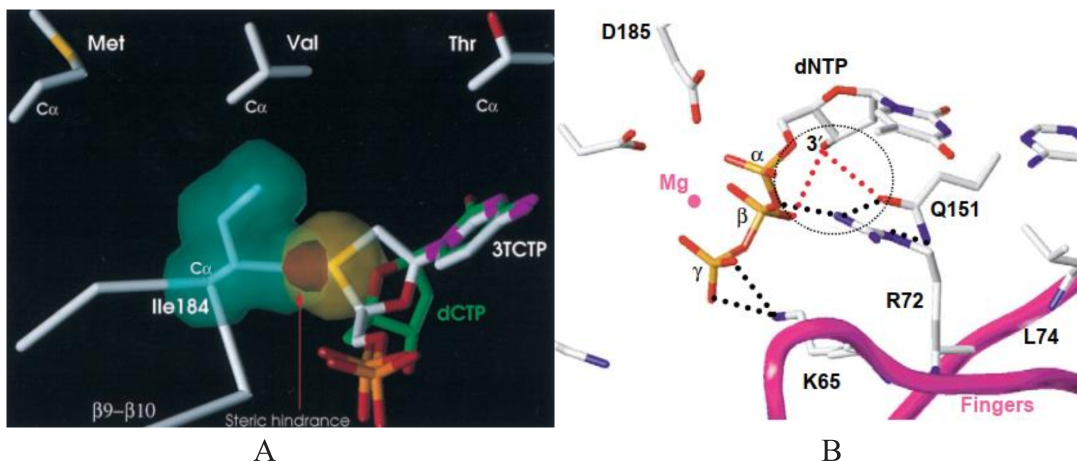
Hình 7.7. Quá trình xâm nhập của HIV thông qua sự hợp màng [9]



Hình 7.11. Cấu trúc đồng kết tinh của temsavir và gp120 [14]

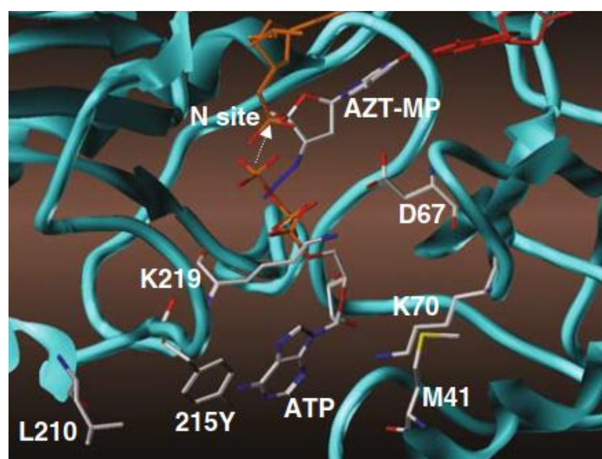


Hình 7.29. Cấu trúc enzyme phiên mã ngược của HIV-1 với hai tiểu đơn vị p66 (màu tím: vùng các ngón tay, màu xanh lam: vùng lòng bàn tay, màu xanh dương: vùng ngón cái, màu vàng: vùng RNAse H, màu cam: vùng nối) và p51 (màu xám) [49]

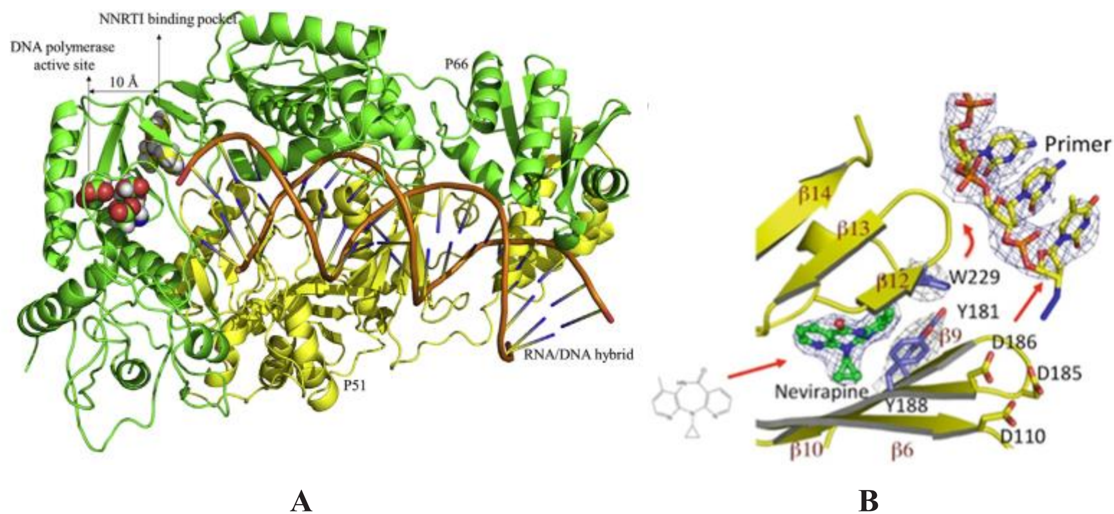


A B

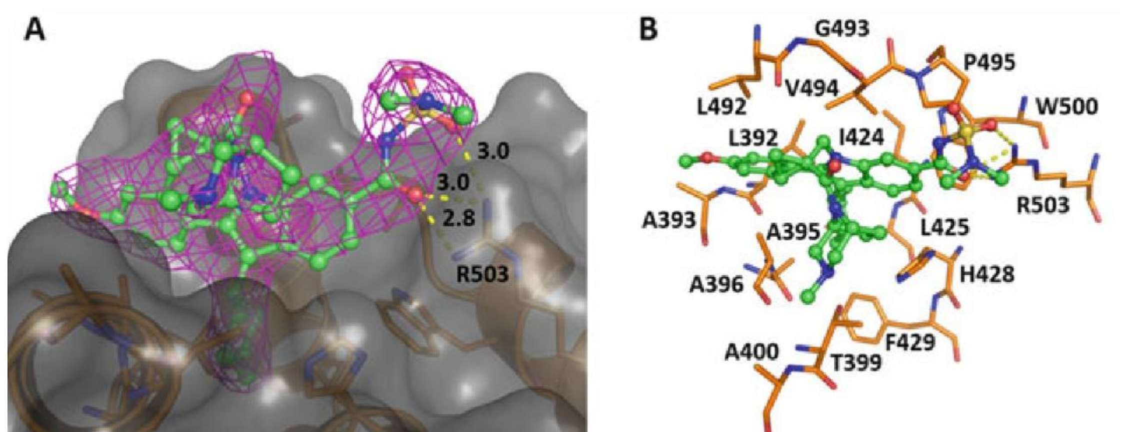
Hình 7.32. A. Sơ đồ minh họa sự cản trở không gian giữa I184 và lamivudine triphosphate (3TCTP), so sánh với cytidine triphosphate tự nhiên dCTP [52]
B. Tương tác giữa enzyme phiên mã ngược và nucleotide triphosphate (dNTP) [51]



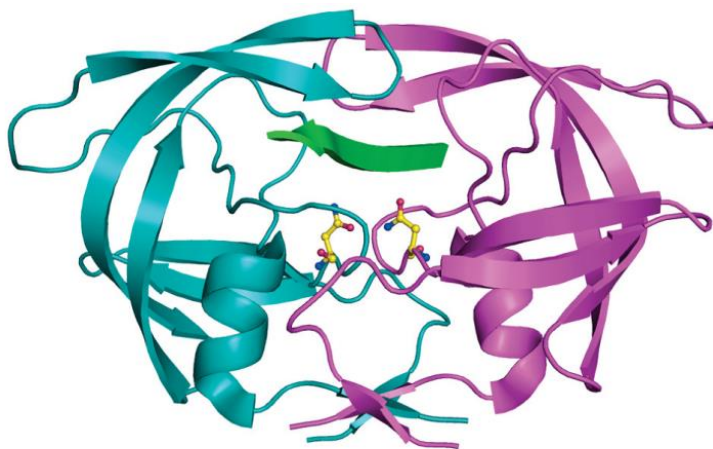
Hình 7.33. Mô hình cấu trúc của enzyme đột biến 215Y
gắn với phức hợp zidovudine (AZT-MP)/ đoạn mồi và một phân tử ATP [53]



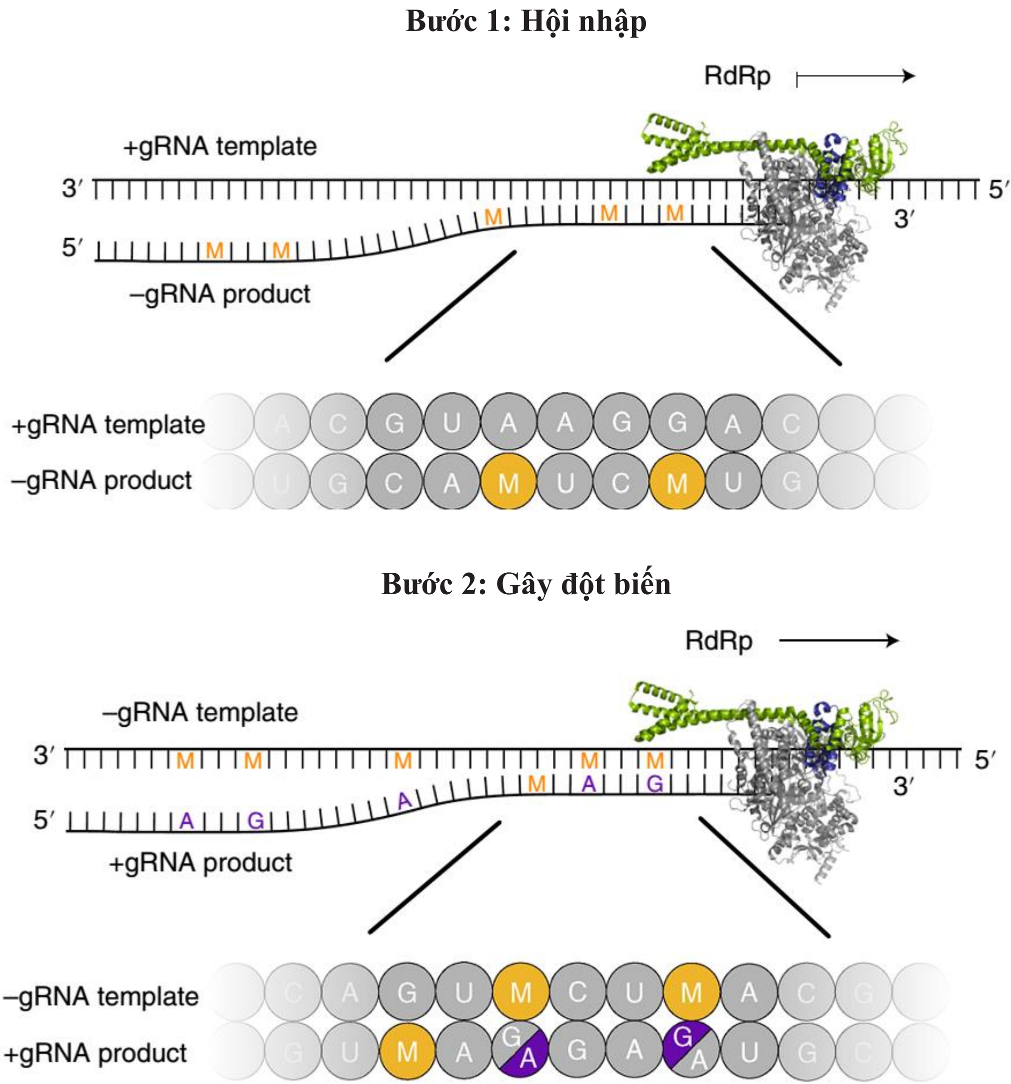
Hình 7.35. A. Cấu trúc của phức hợp enzyme phiên mã ngược HIV-1 với RNA/DNA và nevirapine [63] B. Thay đổi cấu dạng enzyme khi gắn kết với nevirapine [62]



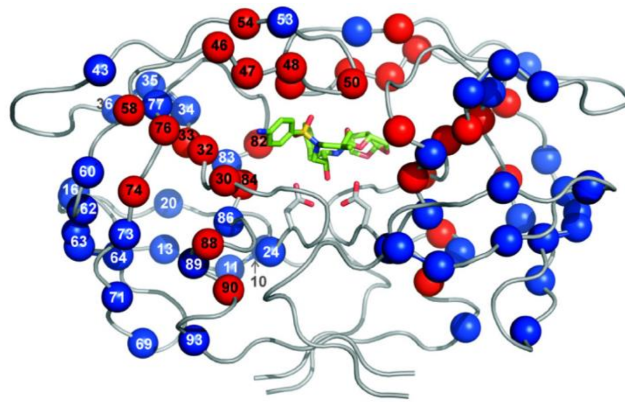
Hình 7.51. A. Beclabuvir gắn kết tại vị trí T1 của NS5B. B. Các amino acid (hình que, nguyên tử carbon màu cam) kề cận với beclabuvir (biểu diễn bởi hình cầu và que, nguyên tử carbon màu xanh lá cây). Dữ liệu thu được từ cấu trúc tinh thể đồng kết tinh của phức hợp bậc ba: beclabuvir (vị trí T1), chất ức chế vị trí 'palm' (không được hiển thị) và NS5B. Liên kết hydro được biểu diễn bằng các đường đứt nét màu vàng [89]



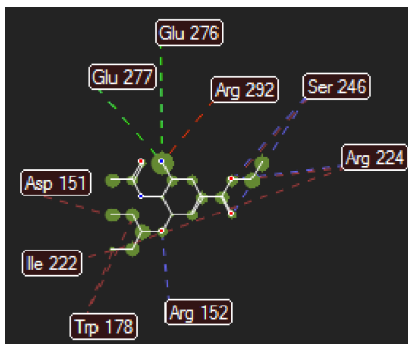
Hình 7.72. Sơ đồ 'ribbon' về cấu trúc tinh thể của phức chất nền của protease 'homo-dimer' HIV-1 (1kj7) (Prabu-Jeyabalan et al. 2002). Mỗi monomer được biểu diễn bằng màu lục lam và màu hồng; cơ chất được biểu diễn bằng màu xanh lá cây và các aspartic acid xúc tác được đánh dấu bằng màu vàng [100]



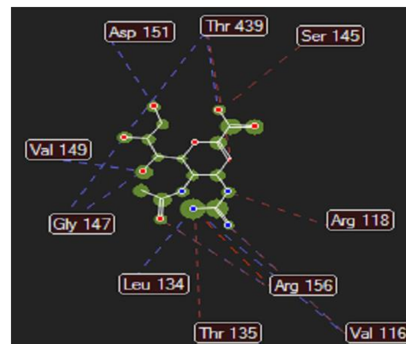
Hình 7.62. Mô hình hai bước của sự đột biến RNA do molnupiravir gây ra. RNA của trình tự ngẫu nhiên được trình bày, với M và các amino acid (residues) đột biến được biểu thị bằng các chữ cái màu cam và tím, tương ứng [121]



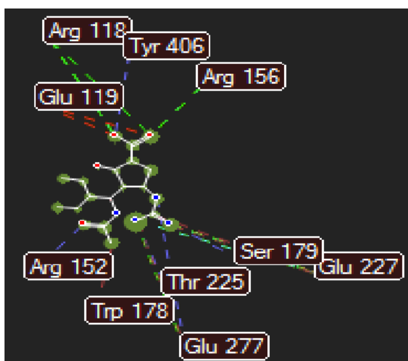
Hình 7.78. Cấu trúc 3D dimer protease của HIV biểu diễn các đột biến chính và phụ liên quan đến sự đề kháng các chất ức chế protease (Johnson và cộng sự, 2008). Các amino acid đột biến được biểu diễn bằng các khối cầu, màu đỏ và xanh cho các đột biến chính và phụ, tương ứng. Các aspartate của vị trí xúc tác và darunavir (xanh lá) liên kết với vị trí này được thể hiện bằng các que. Hình được tạo ra bằng cách sử dụng cấu trúc của HIV protease có nguồn gốc từ bệnh nhân đột biến cao (Saskova và cộng sự, 2009) (PDB 3GGU)



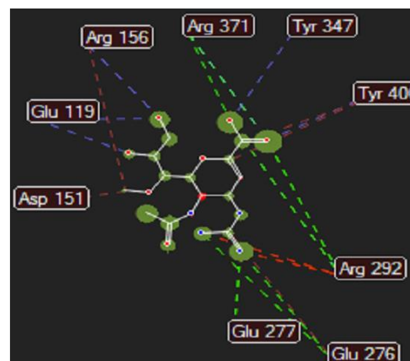
Oseltamivir



Zanamivir

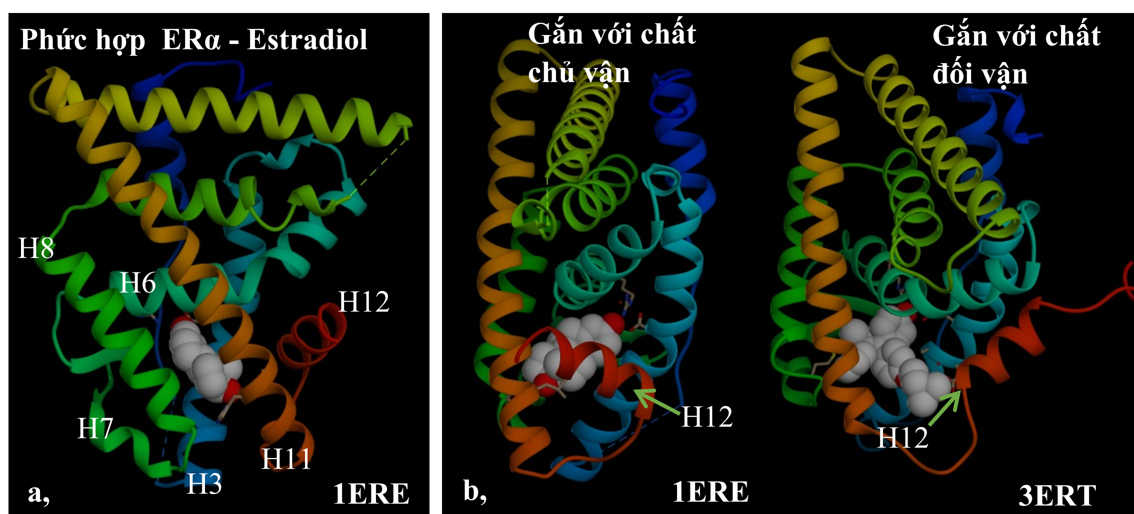


Peramivir

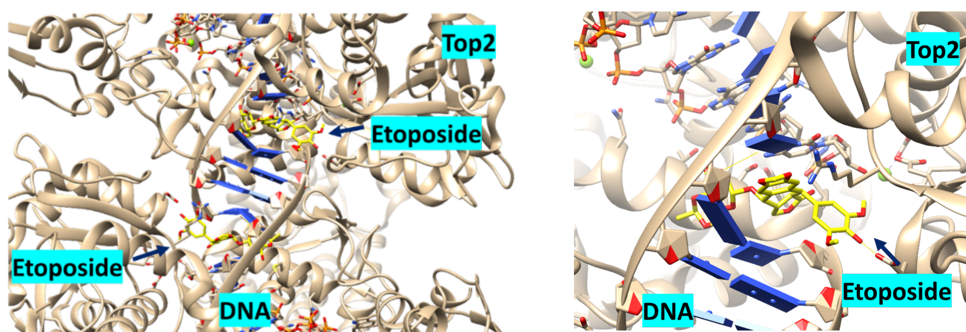


Laninamivir

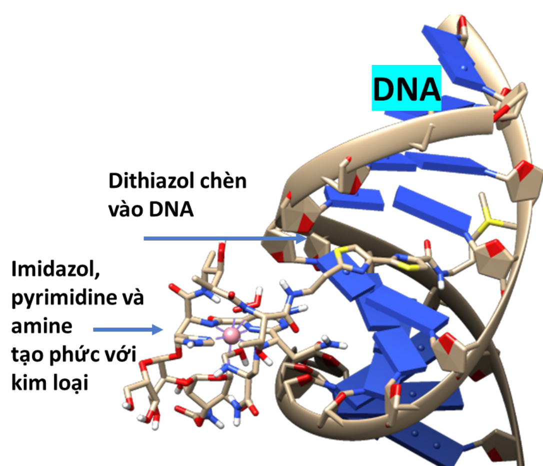
Hình 7.98. Docking oseltamivir, zanamivir, peramivir và laninamivir trong túi liên kết của neuraminidase cho thấy các tương tác khác nhau (liên kết hydro, tương tác tĩnh điện và steric được thể hiện bằng các đường chấm màu xanh lam, xanh lục và đỏ tương ứng) [116]



Hình 9.28. (a) Các helix alpha tạo thành túi gắn kết với ligand; (b) Vị trí khác nhau của helix H12 khi Erα gắn với chất chủ vận (estradiol) hoặc đối vận (4-hydroxyl tamoxifen)



Hình 9.38. Cấu trúc etoposide gắn kết với topoisomerase II.
Cấu trúc tinh thể phức hợp DNA, Top2α và etoposide. PDB: 5GWK



Hình 9.43. Mối liên hệ cấu trúc tác dụng của bleomycin và cách gắn kết lên DNA (PDB: 1MXK). Ion trong cấu trúc là Co(III) thay cho Fe(III)

Index

D

Đ

N

O

P

U

V

X

Z

HÓA DƯỢC

TẬP 1

HUỲNH THỊ NGỌC PHƯƠNG (Chủ biên) - NGUYỄN KIM ANH (Đồng chủ biên)
KHƯU MỸ LỆ, LÂM BẢO VY, LÝ NGUYỄN HẢI DU, TRẦN KIÊN, ĐINH CHÂU PHI



NHÀ XUẤT BẢN ĐẠI HỌC QUỐC GIA THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

Trụ sở:
Phòng 501, Nhà Điều hành ĐHQG-HCM, phường Linh Trung, thành phố Thủ Đức, Thành phố Hồ Chí Minh.
ĐT: 028 62726361
E-mail: vnuhp@vnuhcm.edu.vn

Văn phòng đại diện:
Tòa nhà K-Trường Đại học Khoa học Xã hội & Nhân văn, số 10-12 Đinh Tiên Hoàng, phường Bến Nghé, Quận 1, Thành phố Hồ Chí Minh
ĐT: 028 62726390
Website: www.vnuhcmpress.edu.vn

Chịu trách nhiệm xuất bản và nội dung
TS ĐỖ VĂN BIÊN

Biên tập
NGUYỄN THỊ NGỌC ANH

Sửa bản in

Trình bày, bìa
NGỌC TRẦN

Đối tác liên kết

Xuất bản lần thứ 1. Số lượng in: 500 cuốn, khổ (19 x 27) cm.
Số XNĐKXB: 1415-2022/CXBIPH/2-15/ĐHQGTPHCM.
QĐXB số: 95/QĐ-NXB cấp ngày 03/6/2022. In tại: Công ty TNHH MTV In Tín Lộc.
Địa chỉ: 117/5 Võ Thị Thừa, phường An Phú Đông, quận 12, TP HCM.
Nộp lưu chiểu: Năm 2022. ISBN: **978-604-73-8990-2**.